

## 明 細 書

## マイクロアレイ及びスポッティング装置

## 5 技術分野

本発明は、マイクロアレイおよびマイクロディスクの構成およびスポッティング装置に関する。

## 背景技術

- 10 DNAマイクロアレイはスライドガラスなどの基板上に、数千個のDNAプローブを固定したもので、蛍光分子等で標識した試料（ターゲット）を流し、DNAプローブとハイブリタイズさせて、ハイブリッド形成による蛍光発光の強弱を測定して、試料に含まれる遺伝子の発現量を推定するものである。

- これによって、多数の遺伝子の発現を同時に網羅的に分析できることから、生命科学や薬学、農学の分野の研究開発に基盤的な標準的機器として普及している。  
15 たとえば、ある薬剤に反応するガン組織と反応しないガン組織からmRNA（メッセンジャーRNA）を抽出して、両者の発現量の差を全ヒト遺伝子の載ったDNAマイクロアレイによって推定すれば、そのガン組織と薬剤に特異的な遺伝子発現が判明する。これを用いてその遺伝子をターゲットに発症機序の解明や創薬研究を効率的に実施することができる。  
20

ポストゲノムシーケンスの時代に入って、遺伝子発現の網羅的計測の必要性は、いわゆるテーラメード医療や医学分野における臨床検査はもちろん、食品検査や生産品質管理などのニューバイオ産業に広がり、今後いわゆるDNAマイクロアレイ市場はきわめて大きな拡大が予想されている。

- 25 主流となっている型式には、光リソグラフィ技術と固相法DNA合成技術によりシリコン基板上にオリゴヌクレオチドを垂直に積み上げたアフィメトリックス

型と、スライドガラス上にDNAを貼り付けるいわゆるスタンフォード型の2つがある。前者はあらかじめ遺伝子を選択して発注設計製造依頼しなければならず高価であるが、後者は利用者が使用環境でスポットする遺伝子を自由に選べる利点がある。本発明において、プローブDNA（試料とハイブリダイゼーション後はDNAスポットと呼ぶ）とは、前記したアフィメトリックス型と、スタンフォード型、あるいはその他の形式のプローブDNAを意味するものである。

現在のDNAマイクロアレイは、図11に示すように、ガラス基板110上に、2次元格子状に配列されているDNAスポット列111を、レーザ走査ないし映像計測手段によって蛍光を測定し画像化して読み取っている。2自由度の計測が必要で装置が複雑になり、また後処理として蛍光信号の補正や雑音軽減のための計算機画像解析処理が必要である。スライドガラスの代わりにビーズを使ったものや、多孔性の媒質を用いた装置もあるが、扱える遺伝子数がせいぜい数100種類程度で網羅性にかける。

しかしながら、DNAマイクロアレイを解析するためのスポッター、ハイブリダイゼーション、およびスキャナーからなるシステムは、定量性と感度の点において課題の多いものである。

現在の課題を箇条書にすると、

1. 蛍光測定の感度が悪い
2. 読み取りに時間がかかる
- 20 3. 2次元走査による画像化が必要
4. 操作性が悪い
5. 1枚のガラス基板に配置するDNAスポット数が十分でない（高々1万スポット）
6. 試料の性質や実験条件を同時に記録することが困難で、試料に番号を付加し、
- 25 データシートを別々に用いていた。

本発明の目的はDNAマイクロアレイやスポッティング装置、プローブDNA

作製装置の構造等を根本的に見直し、DNAスポットを効率よくスポッティングあるいは光化学反応により生成した後、安定して短時間のうちに読み取り、解析結果を得ることができ、構成がシンプルで、極めて効率が高い低価格のシステムを提供することにある。

- 5 現在X, Yの2次元格子状に配列されているDNAマイクロアレイのスポットを1次元に配列させ、同時にガラス板を円盤形状に変更し、スポット位置を特定できるプリグループ、プリピット等の指標を設ける。このように構成した円盤状のプリグループにプローブDNAをスポッティングし作成したDNAマイクロディスクと、スポッティングするための装置を提供するための発明である。本発明は同じ発明者による特開2004-333333に用いるDNAマイクロアレイ  
10 の基板に関し、特に基板にスポッティングあるいは光化学反応により生成する方法、および蛍光測定感度に優れた基板に関する発明である。

#### 発明の開示

- 15 本発明は下記の発明に係る。

A. 基板にプリグループを設け、前記プリグループにプローブDNA又は蛋白と接着性が良好な薄膜を設けた上で、前記プリグループの凸部または凹部にプローブDNA又は蛋白を含む液滴を配置して、液滴の表面張力によってグループに垂直な方向の広がり制限された状態でプリグループの接線方向に広がり、その  
20 状態でプローブDNA又は蛋白を基板上に結合させていることを特徴とするマイクロアレイディスク。

B. ディスク基板上のグループの凹部あるいは凸部に、プローブDNA又は蛋白を含む液滴を配置するために、1) 前記グループの位置を検出する機構、2) プローブDNA又は蛋白を含む液滴を吐出できる機構により、グループ上に  
25 プローブDNA又は蛋白を含む液滴を配置することを特徴とするマイクロディスクを作成するためのスポッティング装置。

C. 基板上に薄膜からなる層を少なくとも1層以上設け、基板側から波長 $\lambda_1$ のレーザビームを照射し、プリグループの位置を検出するときには前記基板を照射したレーザビームの一部は透過し、前記基板上に配置されたDNA又は蛋白スポットを計測するために、検出波長 $\lambda_2$ のレーザビームを基板の反対側から照射したときには、一部が反射することを特徴とするマイクロアレイディスク。

D. ディスク基板上的プリグループの凹部あるいは凸部に、プローブDNA又は蛋白を含む液滴を配置するために、1) 前記グループの位置を検出する機構、2) プローブDNA又は蛋白を含む液滴を吐出できる機構により、プリグループ上にプローブDNA又は蛋白を含む液滴を配置することを特徴とするマイクロアレイディスクを作成するためのスポッティング装置において、液滴の吐出位置の制御、液滴の量の制御を行うため、液滴の位置を検出する光学測定部、マイクロアレイディスク上に設けたプリグループを検出し、液滴がプリグループ上にスポットを形成するようにするための制御部、ならびに機構部を有するスポッティング装置。

E. 種類の異なるプローブDNA又は蛋白を効率よく基板上にスポッティングするため、プリグループとプローブDNA又は蛋白を含む液滴を吐出するインクジェット、液滴を滴下する吐出装置であるマイクロピペット、あるいは針状のツール、などの吐出器との相対位置を検出するとともに、複数の吐出器を設けた吐出ユニットを移動制御し、次々に異なる種類のプローブDNA又は蛋白をプリグループの所定の位置に配置するための機構部、光学測定部、制御部（サーボ部とも呼ぶ）を有するスポッティング装置。

F. マイクロディスク上のプリグループの凹部あるいは凸部にプローブDNAを光化学反応により生成するため、プリグループの位置を示すアドレスを検出し、レーザビームを選択的に照射し、プローブDNAを生成する方法。

G. 基板にプリグループあるいはプリピットにより場所を特定できる。平面部を設け、少なくとも前記プリグループあるいは平面部にプローブDNAと接着性が

良好な薄膜を設けた上で、前記プリグループの凸部またはおよび凹部、あるいは  
プローブDNA格納部にオリゴヌクレオチドを光化学反応により創出するに際し、  
前記格納部の場所をプリグループあるいはプリピットにより構成したアドレス情  
報により特定し、前記特定した場所にレーザ光を照射し活性化した後、第1のモ  
5 ノマーを塗布し、前記モノマーの一方の光反応保護基にレーザ光を照射し、前記  
保護基を取り去り、その後に塗布した第2のモノマーを連結し、オリゴヌクレオ  
チドを生成することを特徴とするプローブDNA作成装置。

H. マイクロディスク上に作製した複数の同一種類のプローブDNA又は蛋白の  
良否を判定し、少なくとも良品と判定されたプローブDNA又は蛋白のアドレス  
10 情報を保管することを特徴とするマイクロディスク。

#### 図面の簡単な説明

図1は、本発明の一実施例であるスポッティング装置の概略構成を示す図であ  
る。

15 図2は、本発明のDNAマイクロディスクの概略構成を示す図である。

図2aは、本発明のDNAマイクロディスクの一部を拡大したアドレス情報と  
Vマーク拡大図である。

図3は、本発明の一実施例であるスポッティング装置の制御部ブロック図を示  
す図である。

20 図4は、スポッティング時の反射光量分布変化を示すグラフである。

図5は複数のスポッティング液であるプローブDNA吐出口を有するスポッテ  
ィング装置の概略図である。

図6はマルチスポッティング装置を示す概略図の側面図である。

図7はマルチスポッティング装置を示す概略図の上面図である。

25 図8はマルチスポッティング装置の制御部を示すブロック図である。

図9はインクジェットとスポッティング液のタンクを示す概略図である。

図10はDNAマイクロディスク上に設けた金の薄膜上に設けた金、 $\text{SiO}_2$ 膜上にできる電場強度の計算結果を示すグラフである。

図11は従来のDNAマイクロアレイ構成図である。

図12はDNAマイクロディスクプリグループ部の拡大図

5 図13はプローブDNA作成装置ブロック図

図14はプローブDNA作製装置制御ブロック図

図15はプローブDNA作製装置波形図

図16は読取装置のブロック図

図17はDNAマイクロディスクにおける読取ビームとサーボビームの配置図

## 10 符号の説明

1 DNAマイクロディスク、2 レーザ、3 ビームエキスパンダ、4 対物レンズ、4a トラッキングアクチュエータ、4b フォーカシングアクチュエータ、5 ビームスプリッタ、6 レンズ、7 光検出器、7a 光検出器A、7b 光検出器B、8 インクジェット、9 インクジェット吐出口、10 光  
15 検出器、10a 光検出器A、10b 光検出器B、11 スポットティング液供給チューブ、12 トラバースユニットA、12-1 トラバースユニットB、12-2 トラバースユニットC、13 トラバースモータA、13-1 トラバースモータB、13-2 トラバースモータC、14 ディスクモータ、15 Vマーク検出器、22 中心穴、23 プリグループ、24 第1のデータ記録部、25 第2のデータ記録部、26 Vマーク、26a Vマークピット a列、26b Vマークピット b列、27 プリグループのアドレス情報、28 半径方向矢印、29 接線方向矢印、30 差動増幅器1、31 位相補償器1、32 駆動増幅器1、33 差動増幅器2、34 位相補償器2、35 駆動増幅器2、36 CPU、37 加算器、38 加算器出力、  
25 39 ディスクモータ制御器、41 図4グラフ横軸 DNAマイクロディスク回転時間経過、42 反射光量(図4グラフ縦軸)、43 スポットティング液吐

出時点、44 スポットティング液吐出時点、45 反射光量低下期間、51 インクジェット、52 インクジェット吐出口、53 インクジェットユニット、54 インクジェットユニット移動方向、55 移送ギア、61 ディスクモータ移送装置、62 移送方向、71 マルチインクジェットロータリーテーブル、

5 81 ロータリーテーブル回転制御装置、82 位相補償器3、83 駆動増幅器3、90 インクジェットA、91 タンク、92 接続シール、93 接続孔、94 吐出口、95 加圧室、96 加圧デバイス、97 液名表示部、100 図10 横軸： $\text{SiO}_2$ 膜の膜厚 [nm]、101 図10 縦軸：基板表面上の電場強度、102 波長563nmの特性、103 波長652nmの

10 特性、104 波長532nmの特性、110 ガラス基板、111 DNAスポット列、112 アドレス1のプリグループ、

113 アドレス1、114 アドレス2のプリグループ、115 アドレス2、116 半径方向を示す矢印、117 接線方向を示す矢印、118 DNAマイクロディスク、120 レーザ、121 ビームエキスパンダ、122 ビームスプリッタ、123 対物レンズ、124 トラッキングアクチュエータ、

15 125 フォーカシングアクチュエータ、126 レンズ、128 光検出器、129 トラバースユニット、130 トラバースモータ、131 ディスクモータ、132 ターンテーブル、140 プリアンプ、141 デコーダ、

142 CPU、143 照射パルス制御部、144 I/Fインターフェース、

20 145 PC パーソナルコンピュータ、146 レーザパワー変調器、147 サーボ部、148 再生光パワー、149 ピークパワー、

152 ディスクモータ、153 対物レンズ、153a X方向、153b Z方向、154 対物レンズアクチュエータ、154a トラッキング素子、154b フォーカシング素子、155 蛍光励起用光源（出力光波長

25  $\lambda_1$ ）、156 コリメータレンズ1、

157 サーボ用光源（出力光波長 $\lambda_3$ ）、158 コリメータレンズ2、

1 5 9 ハーフミラー、1 6 0 ビームスプリッタ 1、1 6 1 集光レンズ 1、  
1 6 2 光学フィルタ、1 6 3 蛍光読取検出器、1 6 4 ビームスプリッタ 2、  
1 6 5 集光レンズ 2、1 6 6 サーボ誤差検出器、1 6 7 シリンドリカルレ  
ンズ、1 6 8 回折格子、1 7 0 DNA スポット読取ビーム、1 7 1 プリグ  
5 ループまたは DNA スポット列、1 7 2 サーボ用ビーム、1 7 3 DNA スポ  
ット、1 7 4 X 方向を示す矢印

#### 発明を実施するための最良の形態

本発明においては現在 2 次元格子状に配列されている DNA マイクロアレイの  
10 スポットを同心円状あるいはスパイラル状の 1 次元に配列させ、同時にガラス板  
を円盤形状に変更し、スポット位置を特定できる指標を設ける。具体的には、ガ  
ラスディスク上のプリグループおよび、あるいは指標を設けた場所に正確にスポ  
ッティングを行い、1 次元方向に走査し、歪無く DNA スポットを読み取ること  
ができる。DNA マイクロディスクと、前記 DNA マイクロディスクにプローブ  
15 DNA をスポッティングするための装置である。

さらに、DNA マイクロディスク上に記録可能なゾーンを設け、作成条件と測  
定結果、プリグループにより位置決めされスポッティングされたスポットの位置  
を示すアドレス情報とスポッティング液名との対応関係を、スポッティングした  
DNA マイクロディスク上に記録する。これによって、従来ガラス板と作成時の  
20 データが別に保管されていたのを一体的に保存でき、“操作性、信頼性”とセキ  
ュリティが向上する。このための具体的制作方法を提供するためのものである。

以下本発明の実施をするための最良の形態を具体的に示した実施例について図  
面とともに記載する。

以下、図 1、図 2、図 3 を用いて本発明における第 1 の実施例の概略構成を図  
25 示する。尚、蛋白等を用いることもできるが、以下、主に DNA を用いた説明を  
行う。



図1は、図2に示したDNAマイクロディスクにプローブDNAをスポッティングするための装置の構成を示すブロック図、図2はDNAマイクロディスクを示す図面である。

図1において、1はDNAマイクロディスクで、23のプリグループを有している。そして14のディスクモータにより、回転制御される。8は前記基板にプローブDNAを吐出するための吐出装置で、実施例ではインクジェットを用いている。インクジェットの代わりにマイクロピペットあるいはペン先のようなツールを用いることも可能である。前記インクジェットの位置を検出するためインクジェット吐出口に対して一定の位置に置かれた光検出器10（10a、10bの受光素子を有する）が設けられている。なお、スポッティングされてプリグループ上に固定されるDNAスポットの形状に関し、接線方向と直角の幅方向の大きさの比は、接線方向が大きく、2倍以上になることが実験により確かめられている。

プローブDNAの液（スポッティング液）はインクジェットに設けられたタンクから、あるいは、11のスポッティング液供給チューブにより供給される。スポッティング液はプローブDNA、蛋白などを水、その他の媒体（アルコールなど）に溶解した液である。このスポッティング液はプリグループの凸部または凹部の両方あるいはいずれか一方に配置することができる。

2はレーザであり、出射したレーザビームは3のエキスパンダあるいはコリメータレンズにより平行光に変換され、5のビームスプリッタを経て4の対物レンズにより1のDNAマイクロディスク上のプリグループ23に焦点を結ぶ。前記プリグループ23から反射した光は4の対物レンズ、5のビームスプリッタを経て、6のレンズにより、7a、7bの2分割セルを有する光検出器7に前記プリグループのファースフィールド像が形成され、7a、7bの光検出器の差動信号により、4の対物レンズから出射したビームスポットと、23のプリグループの相対位置が検出できる。

また23のプリグループの透過光は10a, 10bの2つの光検出器からなる光検出器10に入射する。そして、光検出器10a, 10bの差動信号は、9のインクジェット吐出口とプリグループの相対位置を示す。12はトラバースユニットAであり、インクジェット8、光検出器10、および、2のレーザ、3のビームエキスパンダ、4の対物レンズ、4a, 4bのアクチュエータ、5のビームスプリッタ、6のレンズ、7の光検出器から構成される光学測定部および機構部は、トラバースユニットAとして一体に構成され、13のトラバースモータAにより1のDNAマイクロディスクの半径方向に可動制御される。

4の対物レンズをDNAマイクロディスクの半径方向に位置を移動制御し、23のプリグループに対物レンズから出射したレーザビームを追従させるための制御部をトラッキングサーボと呼び、8のインクジェットの位置を10の光検出器により検出し、プリグループ23上にインクジェットから吐出される液を配置する制御部を、トラバースサーボと呼ぶ。

図2において、DNAマイクロディスク1には、ディスクモータにより回転させるための中心穴22と、凹凸状のプリグループ23が設けられている。プリグループを作成する方法としては、ガラス基板を選択的にエッチングし作成することができる。また、プリグループの凸部を印刷により設けることもでき、印刷により作成した場合は、印刷のインクが付着しない基板上に、DNAスポットを配置する。もちろん樹脂を用い、CD等の光ディスクと同様な方法を用い、インジェクションモールドにより作成することも可能である。またプリグループを接線方向に切断して、プリピットとし、プリグループの代わりに用いることもできる。

プローブDNAをスポッティングする表面上に、必要により例えば $\text{SiO}_2$ あるいは金などの、レーザビームを照射したときに蛍光を発しない薄膜を設ける。さらに $\text{SiO}_2$ あるいは金などの薄膜上にプローブDNAと接着性が良好な薄膜を形成する。この後者の薄膜はスポッティングするプローブDNAとの密着を促進し、プローブDNAの液滴がその表面張力、及び／又は凹部にスポッティング

された場合は凹溝の壁の存在によりプリグループ上に存在し、時間の経過により  
プローブDNAを溶解している液体が蒸発して最終的にプローブDNAはプリグ  
グループ上に固定される。このような薄膜の例としては例えば、ポリ-L-リシン  
(Poly-L-lysine: PLLと略記) 水溶液で処理することで形成さ  
れる薄膜などを代表例として挙げることができるが、これに限定されるものでは  
なく3-アミノプロピルトリエトキシシラン (APSと略記) 水溶液等を挙げる  
ことができる。あるいは、末端をビオチン化したDNAをプローブDNAに用い  
ることができる。この場合 には基板表面にアビジンを固定しておくことでアビジ  
ン-ビオチン間の特異的結合形成能によってDNAを基板に固定することができ  
る。また、基板の表面だけに薄膜を設けると、温度湿度環境の変化により基板が  
反ることがあるので、基板の両面に対称に薄膜を設けた方が好ましい。このとき  
も、基板面から入射したレーザビームが基板を透過するように薄膜を設けるのが  
好ましい。

プリグループの位置を示すためのアドレス情報をプリグループに附加している。  
図2においてプリグループを同心円状あるいはスパイラル状に作成し、27に示  
すように同心円のプリグループの一部分を切断し、プリグループのある部分とな  
い部分を設け、プリグループの位置を示すアドレス情報とした。またDNAマイ  
クロディスクの最外周部、あるいは内周部に26のVマークと称する回転位置を  
示すマークを設けた。図2aは図2の一部を拡大して示したアドレス情報とVマ  
ーク拡大図である。実際のプリグループは円周に沿っているため、扇型になるが、  
ここでは簡単のため直線として示した。なお図2との対応関係は同じ番号を与え、  
示している。

このように構成したDNAマイクロディスク上に、次に述べるスポッティング  
によるDNAスポットを設けたものもDNAマイクロディスクと呼ぶ。

次に、Vマークの構成を詳細に述べる。図2aにおいて、このVマーク26は、  
プリグループの回転方向の角度を示しており、本実施例では、Vマーク26の間

の回転方向の角度にプリグループのアドレス情報を示すプリビット列（26a、26b…）を設けた。このようにVマークを設けることにより、アドレス情報のディスク円周上の位置を検出することが容易になる。例えば26aを起点0度とすると、26bは円周上の0.5度の位置を示す指標となるわけである。

- 5      このように、Vマークがディスク上の回転角度を表す絶対番地を構成することになるわけである。例えば半径方向に4ビットを表すプリビット列（26a、26b…）を構成し、それらを用いて、角度を番地に対応させた。なお図2aの28の矢印はDNAマイクロディスクの半径方向を、矢印29は接線方向を示している。27のプリグループのアドレス情報は半径方向に複数本配置されるプリグループの半径方向の位置を示すアドレス情報を示している。（例えば最外周を1番目のプリグループとし、内周方向に2、3、4となる4ビットの番地を与え
- 10      る）アドレス情報、角度情報を記録する時には、よく知られた変調方法、例えばFM変調、位相変調、を用いる。Vマークの示す角度情報は、図6に示すVマーク検出器15により読み取られ、プリグループの位置情報は、プリグループを走査する対物レンズ4の出射光ビームにより読み取られる。この間の時間軸上での時間ズレが存在する時には、もちろんスポッティング装置のCPU36により補正される。

また図2において、24の第1のデータ記録部はスポッティング時に、あるいはスポッティング終了時に、スポッティング液をデータ記録に用いるために濃淡

20      マークが生成できるインク等にする。そしてこのインク等により作製されたスポットの位置、大きさ、位相などを変化させ情報を記録するためのものである。そして、DNAスポットを作成する時の条件などの情報を、DNAスポットを基板上に設けるときに、情報により変調された記録スポットの列を作成し記録する。

特に、スポッティングする位置を示すアドレス情報と、スポッティング液に名

25      称との対応関係を記録することが、有効である。

このときに用いることのできる変調方法としては、記録スポットを2値信号か

らなる情報信号に応じて、記録スポットの位置を変化させる方法、あるいは情報信号に応じて、記録スポットの周期を変化させる方法などを用いることが可能である。また記録スポットを構成する材料としては、有機材料あるいは、無機材料などから作られたインク等を使用できる。

- 5    また、言うまでもないが、スポットティングする位置を示すDNAマイクロアレイ基板上的アドレス情報と、スポットティング液の名称の対応関係は、別のメモリーに記録し、DNAマイクロアレイ基板に付属させることもできる。この時にはDNAマイクロアレイ基板にバーコードなどにより、識別情報を設け、メモリーとの関係付けをメモリーに記録すればよい。

- 10    この第1の記録部分とは別に第2の記録可能部25を基板上に設け、DNAスポットの読取を行った後に、読み取られたDNAスポットの有する情報データを追記することも可能にした。

記録可能部分には、従来から記録可能光ディスクに用いられている色素あるいは、金属薄膜を基板上に蒸着あるいはスパッタ手段により形成することができる。

- 15    第2のデータ記録部はプリグループ上に設け、かつ前記プリグループに番地情報を設け、他の部分と識別を容易にすることが望ましい。このデータ記録部に、スポットティングする位置を示すアドレス情報と、スポットティング液に名称との対応関係を記録することももちろん可能であり、そのときには、スポットティング中に取得された情報を、一時的に別のメモリーに記憶させ、スポットティングが終了後  
20    にまとめて記録することも可能である。

次に動作について、図2のDNAマイクロディスク、図3のスポットティング装置制御部ブロック図、および図4のスポットティング時の反射光量分布変化を示すグラフを用いて説明する。

- 図1、図3において、4の対物レンズから出射したレーザビームは、4aのトラッキングアクチュエータにより1のDNAマイクロディスク上のプリグループ23を追従する。このため、7の光検出器を二分割した7a、7bの光検出器の  
25

出力差は30の差動増幅器1の出力として得られ、31の位相補償器1によりトラッキングサーボ部の応答を適正化し、32の駆動増幅器1により4aのトラッキングアクチュエータを位置制御する。また4の対物レンズからの出射する光の一部は、1のDNAマイクロディスクを透過し、10aの光検出器、10bからなる光検出器10により検出され、その差は33の差動増幅器2により出力される。33の出力は34の位相補償器2によりトラバースサーボ部の応答を適正化し、35の駆動増幅器1により、13のトラバースモータAを駆動制御し、13のトラバースユニットAを位置制御する。この結果、9のインクジェット吐出口の位置は常に23のプリグループと対向する位置に追従するように制御され、インクジェットから吐出する液は23のプリグループ上に吐出し配置される。

インクジェットから吐出されプリグループ上に付着した液滴を4の対物レンズから出射されたビームスポットにより照射する。そしてプリグループおよび付着した液滴により反射され、7の光検出器により検出される。図4はこのときの様子を示すグラフである。図4のグラフの横軸はDNAマイクロディスクの回転位置を示し、縦軸は光検出器7により検出される反射光量を示す。

図4は液滴がプリグループ上に付着した時に、液滴により反射光量が著しく低下することを示している。これは図4における45の矢印（反射光量低下部を示す）により示される。

液滴が吐出され、プリグループ上に付着した時点を光検出器7により検出可能である。実施例では、光検出器7の出力を37の加算器により検出し、その加算器出力38はCPU36に供給され、液滴が付着したかどうか、また付着した位置を7の光検出器の出力により測定できる。インクジェットの吐出位置精度は±30μm程度であるので、プリグループの半径方向のピッチ（トラックピッチと呼ぶ）を30μmとした時には、前記した光検出器7の出力を測定することにより13のトラバースユニットAの位置を制御し、液滴がプリグループ上に配置されるように制御可能である。またプリグループの接線方向の位置精度に関しては、

インクジェットを取り付け位置を調整することにより最適位置に調整できる。

次にインクジェットを取り付け位置調整方法に関し、図1と図3を用い具体的に説明する。図1においてレーザから出射したレーザ光は、対物レンズを経て23のプリグループ上に焦点を結ぶ。このとき9のインクジェット噴射口からスポ  
5 ッティング液を吐出する。

このときの様子を図4に示す。図4において、1のDNAマイクロディスクを回転させ8のインクジェットからスポッティング液滴を43、44に示すスポッ  
ティング液吐出時点において、吐出させ、プリグループ23から反射し対物レン  
ズを経由して7の光検出器に戻る光量を、反射光量をグラフの縦軸42にプロッ  
10 トした。横軸は時間経過をDNAマイクロディスク回転時間経過41として示す。

液滴がプリグループ上に付着すると、図4において、45の反射光量低下期間  
に示すように、プリグループから反射し対物レンズを経由して7の光検出器に戻る  
光量が約1/10となることがわかる。7の光検出器により23のプリグルー  
プから反射した光量分布を測定し、23のプリグループの中心に吐出した液滴が  
15 配置されるように、8のインクジェットの位置を調整する。調整はインクジェッ  
トからの吐出を何回か繰り返して行い、最適の位置に調整する。

7の光検出器の出力は30の差動増幅器により光量分布を測定し、37の加算  
器の出力を、36のCPUに供給することにより光量を測定し、13のトラバー  
スユニットAの位置を制御しながら行う。

20 なお14のディスクモータは1のDNAマイクロディスクを回転駆動する。

尚、4の対物レンズは、4bの対物レンズアクチュエータにより、DNAマイ  
クロディスクに対して垂直方向に可動させることができ、1のDNAマイクロデ  
ィスクと4の対物レンズの距離を検出し、一定に制御するフォーカス制御部（図  
示せず）を構成することも可能である。このときには、4の対物レンズと1のD  
25 NAマイクロディスクの相対位置を検出し、検出した位置が一定となるように4  
の対物レンズの位置（DNAマイクロディスクに対して垂直方向）を4bのフォ

ーカシングアクチュエータにより駆動制御する。

次に図5を用い、インクジェットとスポッティング液を保有したタンク（インクジェットに含む）を、複数収納したインクジェットユニット53を12-1のトラバースユニットBに載置し、複数種類のプローブDNAの液滴を順次インク  
5 ジェット51から吐出し、DNAマイクロディスク上のプリグループに配置する方法を説明する。

ここで、インクジェットを複数個設けたインクジェットユニット53を図5に示す12-1のトラバースユニットBに載置し、インクジェットユニットはトラバースユニットBに対して55の移送ギアにより移動可能にした。この時、51  
10 のインクジェットを複数個設け、各々のインクジェットに各々異なる成分を有するプローブDNAの液が吐出できるようにしている。そして各インクジェットからプローブDNAを含む液をスポッティング可能に構成した。そして10の光検出器とインクジェットユニットに設けられたインクジェットの吐出口52は常に同じ位置関係を保つように、12-1のトラバースユニットBに対してインク  
15 ジェットユニット53を54のインクジェットユニット移動方向に示す方向に移動制御する。

図6、7はスポッティング装置の別の一実施例を示す構成図である。図6は側面からみた構成図、図7は上面からみた構成図である。図6において、図1との共通点が多いため、図1において使用した番号はそのまま同じものを使用してい  
20 る。

最初に大まかな動作について述べる。1のDNAマイクロディスクのプリグループ23上にプローブDNAの液滴をインクジェットから吐出して、液滴をプリグループ状に配置するため、DNAマイクロディスクを回転させる。同時にインクジェットが複数個取り付けられたロータリーテーブルを回転させ、所望のイン  
25 クジェットがプリグループ上の指定した位置になるように、DNAマイクロディスクの位置を62の移送方向に変位させる。プリグループ上の指定した位置にイ



ンクジェットが来た時、インクジェットから液滴が吐出され、プリグループ上に配置される。

次に詳細な動作について説明する。

図 6 において 60 以上の番号を有するものは、図 1 の構成に対して新たに附加したものである。

61 はディスクモータ 14 を 62 の移送方向に移送するディスクモータ移送装置である。もちろん 14 のディスクモータにクランプされている 1 の DNA マイクロディスクは、14 のディスクモータと一体に移送される。

4 の対物レンズから出射したレーザビームは 23 のプリグループにより回折され、その反射光のファーフールドパターンが 7 の光検出器により受光される。

7 a、7 b の光検出器の差動信号は、前記したレーザビームが 1 の DNA マイクロディスク上に形成するスポットとプリグループの相対位置を示すので、差動信号が 0 になるように 4 a のトラッキングアクチュエータと 13-2 のトラバースモータ C を制御し、前記ビームスポットが 23 のプリグループを追従するように動作する。12-2 のトラバースユニット C は図 5 に示した 12-1 のトラバースユニット B とは異なり、インクジェットと光検出器 10 が 71 のマルチインクジェットロータリーテーブルに取り付けられている。

4 の対物レンズから出射したレーザビームは 23 のプリグループにより回折され、そのファーフールドパターンが 10 の光検出器により受光される。

10 a、10 b の光検出器の差動信号は、前記したレーザビームが 1 の DNA マイクロディスク上に形成するスポットと、プリグループの相対位置を示すので、61 のディスクモータ移送装置を制御し、インクジェット 9 の吐出口が 23 のプリグループ上に位置するように追従制御する。

つまり対物レンズを出射したレーザビームスポットは、4 a のトラッキングアクチュエータおよび 13-2 のトラバースモータ C によりプリグループを追従し、DNA マイクロディスクの位置は、インクジェットの吐出口の位置に追従するわ

けである。インクジェットからスポッティング液を吐出するタイミングは14のVマーク検出器の出力およびプリグループに設けたプリグループの場所を特定するアドレス情報27を、7の光検出器の出力から読み取って行う。Vマーク検出器15としては、例えばフォトカップラー、レーザビームをVマークピット列に沿って半径方向に走査する光ヘッド等を用いることができる。フォトカップラーを用いた時には、光を基板の一方から照射し、基板を透過した光をもう一方の光検出器により受光し、Vマークを読み取る。

走査光ヘッドを用いた時には、光ヘッドからレーザビームをVマークに走査しながら照射し、基板を透過した光を別の光検出器により受光し、Vマークを読み取る。なお、走査方向は図2の28に示す半径方向である。走査方法は、レーザビームを照射するためのレンズの位置を変位させることにより行う。Vマークを走査し位置を検出すれば、DNAマイクロディスクとレーザ光の相対速度が0に近くなってもプリグループの位置情報を読み取ることが可能となる。

このように制御した上で、図7における71のマルチインクジェットロータリーテーブルに載置されたインクジェット8が、1のDNAマイクロディスク上のプリグループに正確に液滴を、吐出し、配置する。71のマルチインクジェットロータリーテーブルの回転は図8のロータリーテーブル回転制御装置83により回転制御される。なお図示していないが、インクジェットから液滴を吐出するための制御信号は、図8のCPU36が、前記したVマーク検出器15の出力およびプリグループに設けたプリグループの場所を特定するアドレス情報を、7の光検出器により受け取り、インクジェットの吐出タイミングを制御する。また13-2のトラバースモータCは、31の位相補償器1の出力を81の位相補償器、82の駆動増幅器3を経由した駆動信号により制御される。

図9に図7のマルチスポッティング装置を用いるインクジェットの構造を示した。91はスポッティング液としてプローブDNAを貯蔵するタンク、90はインクジェットAであり、接続孔93により、91のタンクに挿入し、接続される。

なお 9 2 は接続シール、9 4 は吐出口、9 5 は 9 6 の加圧デバイスの圧力を受け、9 4 の吐出口からスポッティング液を吐出するための加圧室である。

インクジェットのタンクにはタンクに有するスポッティング液の種類を表示するバーコード等の液名表示部 9 7 が設けてある。

- 5      プリグループ上の規定の位置にスポッティングする時には、必ず前記バーコード 9 7 を読み取り、プリグループ上のアドレス情報とともに表示部 9 7 が表示した情報をメモリーに記録する。プリグループのアドレス情報は、図 3 の 3 8 の加算器出力を用いて読み取ることもできる。もちろん、図 6 の V マーク検出器の出力から DNA マイクロディスク上のスポッティング位置を検出することも可能と
- 10    している。このメモリーの内容は最終的には、DNA マイクロディスク上の記録領域（図 2 の領域 2 4 あるいは 2 5）に転記し、スポッティングが終了した DNA マイクロディスク上のどの位置に、どのようなスポッティング液が配置されているかを、知ることができるようにしてある。

- 以上のごとく構成することにより、基板上のプリグループの位置を検出し、ス
- 15    ポッティング液としてプローブ DNA をプリグループ上にスポッティングすることが可能となり、基板上の予め決められたアドレス情報をもつ位置にプローブ DNA を設けることが出来、かつプリグループによりプローブ DNA が基板上に広がることを規制できるため、プローブ DNA を高密度で配置することが可能になった。図 1 ではプリグループの凸の部分にスポッティング液を配置しているが、
- 20    プリグループの凹の部分に配置してもよい。この場合には、スポッティングされたスポッティング液はプリグループの凹の部分に沿って配置される。

また、プリグループには予め番地情報 2 7 を附加させることができるため、プローブ DNA を正確に示すことができる。

- なお以上の実施例においては、プローブ DNA をスポッティングする時には、
- 25    基板上のプリグループの位置を検出するため基板側から例えば波長 7 8 0 nm のレーザビームを 2 のレーザより照射し、透過したレーザビームを用いて、基板上

のプリグループ23の位置を検出し、前記したごとく位置決めを行う。基板に薄膜を設けたときには、基板側から照射したレーザビームが基板を透過する波長をもつレーザを選択し、使用する。

5 基板上のDNAプローブに試験試料であるcDNAを塗布し、プローブDNAとハイブリダイゼーション反応が生じた後、生成されたDNAスポットに含まれる蛍光を検出する時には、例えば波長約650nm、約530nm、約400nmのレーザビームを基板上より照射し、その反射光を用いる。このため、基板上にはSiO<sub>2</sub>、金などの層を設けている。実施例においては基板上に金の層を設けその上にSiO<sub>2</sub>層を作製している。金の代わりにPtなど、またSiO<sub>2</sub>の  
10 代わりに同等な性質をもった無機材料、有機材料を使用することも可能である。

基板上に設けた金、SiO<sub>2</sub>の薄膜の機能について説明する。図10において、横軸100はSiO<sub>2</sub>膜の膜厚[nm]を示し、縦軸101は基板表面上の電場強度のポリカーボネート基板のみの場合に対する比を示し、金、SiO<sub>2</sub>の薄膜を設けたときと、何も設けなかったときの比較値をあらわした。102は波長5  
15 63nmのレーザ光を、103は波長652nm、104は波長532nmのレーザ光を用いた時の特性である。

図10では、金の薄膜の上にSiO<sub>2</sub>の薄膜を配置した。金の膜厚を50nmとした時SiO<sub>2</sub>膜上にできる電場強度比を、SiO<sub>2</sub>膜の厚さを変化させて計算した結果を図10の縦軸に示したものである。

20 この結果、例えばSiO<sub>2</sub>の膜厚70nmにおいて、縦軸の強度比が5倍になっている事がわかる。これは前記した膜構造にしたとき、膜の形成した面から532nmの波長の光を照射したときの反射光量が5倍になることを示すわけである。

図10のグラフにおいては、金の薄膜の厚さを50nmとした時、SiO<sub>2</sub>膜  
25 厚を70nmとすることにより、SiO<sub>2</sub>表面の電場が薄膜の無い時に比べ約5倍になることがわかる。このように基板表面に薄膜を設け、レーザ光を照射した

ときに、電場を大きくするように構成することにより、蛍光体を含んだDNAスポットにレーザビームを照射しその反射光を観測すれば、光量が増加し、反射光のS/Nが向上する効果が得られる。

5 基板にスポッティングする場合においては、スポッティングする基板表面に微小な油脂成分等の汚れを取り除くことが重要である。そのため、スポッティングする直前にプリグループを照射するレーザビームの出力を増大させることにより、基板表面の温度を上昇させ、汚れ成分を取り除くことができる。

このために、位置検出用のレーザビームを用いることが可能であるが、別のレーザを準備し、スポッティングに先立って基板表面の温度を一時的に上昇させた  
10 後、スポッティングを行うこともできる。

基板としては円盤状とした実施例を用いて説明したが、円盤状ではなく、長方形などの形状でも適用可能である。もちろんプリグループを円周状ではなく、直線状の線分を集合させた形状でも利用可能である。

またインクジェットの位置を検出するために、インクジェットに直接光検出器  
15 を取り付けることもできる。もちろん光を用いた位置検出方法以外の方法、例えば磁気検出を用いることも可能である。スポッティング液としては、cDNAなどのプローブDNAを用いた実施例により説明したが、スポッティング液としては、蛋白など、液状のものであれば、何にでも適用できる。

また本発明の基板は、プローブDNAとして、オリゴDNAを光化学反応を用  
20 いて作製するときの基板としても使用することができる。

ここで簡単に本発明の基板を用いて、光化学反応により用いて作製するプローブDNAの説明を行う。

周知のように、DNAはデオキシリボヌクレオチド（ヌクレオチドという）の重合体である。このヌクレオチドはデオキシリボースにリン酸、及び、アデニン  
25 (A)、グアニン(G)、シトシン(C)、チミン(T)、の4種類の塩基の中の1つが結合した化合物である。たとえば2つのヌクレオチド、今これらの一つを

[X]、もう一つを[Y]とし、[X]の中のデオキシリボースの5'炭素原子と[Y]の中のデオキシリボースの3'炭素原子が、間にリン酸をはさんでエステル結合を形成することによってつながることができる。

ヌクレオチドは、2つの末端を持っているが、この1つの端を5'炭素、もう  
5 1つの端を3'炭素と結ばれており、ヌクレオチド間の結合は5'炭素と3'炭素の間だけでつくられ、5'炭素間、あるいは3'炭素間では結合が起きない。

そして結合をくりかえすことで、理論的には無限の数のヌクレオチドを直鎖状に結合することができる。そして、各ヌクレオチドにはA、G、C、Tの4種類の塩基のうち1つが含まれるため、DNAの中ではこの塩基の並ぶ順番を指定する  
10 ことが出来、これがDNAの塩基配列となる。ここでは簡単のためこれらを、A、G、C、Tと呼ぶ。このDNAを基板上に作成したものをプローブDNAと呼ぶ。

プローブDNAを図2のDNAマイクロディスク上に生成するに際し、DNAマイクロディスク上に記録可能なゾーンを設け、作成条件と測定結果、プリグループあるいはプリピットにより位置決めされプローブDNAの格納位置を示すアドレス情報と、プローブDNAとの対応関係を、DNAマイクロディスク上に記録する。これによって、従来ガラス板と作成時のデータが別に保管されていたのを一体的に保存でき、操作性、信頼性とセキュリティが向上する。このための具体的作成方法を提供するためのものである。

20 以下本発明の実施をするための最良の形態を具体的に示した1実施例について図面とともに記載する。

以下、図12、図13を用いて、本発明における第1の実施例の概略構成を図示する。図11はDNAマイクロディスクのプリグループとその位置を示すアドレスの部分拡大して示した図面である。また、図13はプローブDNAを作成  
25 ための装置の構成を示すブロック図である

ここでは図12に示したDNAマイクロディスク118上のアドレス1(11

3) を有するプリグループ 1 1 2 に A-C-G-T という塩基配列の 4 つのヌクレオチドから出来たオリゴヌクレオチドを、生成する。そして、1 1 5 のアドレス 2 が示すプリグループ 1 1 4 に G-A-T-C の配列を持つオリゴヌクレオチドを DNA マイクロディスク上につくる場合を例にとり説明する。

- 5       すでに説明したように、A が 3' 末端側で、T が 5' 末端側だとする。DNA の化学合成では 3' 末端側から始めて、その 5' 末端に順次ヌクレオチドを一つずつ付加していき、その際に付加するヌクレオチドの種類をコントロールすることで目的の塩基配列の DNA を合成する。例えば A から開始する場合を説明する。このヌクレオチドの 5' 末端には別の化学基を結合させて他のヌクレオチドの 3' 末端と反応できないようにしておく。このような化学基をここでは保護基と呼ぶ。
- 10       この最初の A のヌクレオチドをその 3' 末端で、基板上の樹脂に共有結合させておく。なお、3' 末端をビオチン化した DNA をプローブ DNA に用いることができ、この場合には DNA マイクロディスク 1 1 1 の表面にアビジンを固定しておくことでアビジン-ビオチン間の特異的結合形成能によって DNA を基板に固
- 15       定することもできる。

この最初の A のヌクレオチドをその 3' 末端で固定する方法としては、次の方法もある。まずこの DNA マイクロディスクの表面に光化学的に活性化する物質を設ける。

- あるいは、この DNA マイクロディスクの表面にレーザ光を照射したときに発生する電場を大きくするため、例えば金の層、SiO<sub>2</sub> の層を設けその上に前記した光化学的に活性化する物質を設けることもできる。
- 20

- まずこの DNA マイクロディスク基板の表面に光化学的に活性化する物質、光照射によって乖離し、その後に OH-基が残存する性質を持つ保護基によって端末されたモノマー（モノヌクレオチド）を設け、これを重合させて一端を基板表面に固定した状態のオリゴヌクレオチド（鎖長の短いポリマー）を合成する。次に基板表面に選択的にレーザ光を照射して保護基を外して OH-基を生成した後、
- 25

モノヌクレオチド溶液を、例えばスピンコートにより塗布すると化学反応が起こり、ポリヌクレオチド（DNA）が光をあてた部分に結合する。モノマーとしては、感光性保護基で5'ヒドロキシルを光保護された3'-O-活性化ホスホルアミダイトヌクレオチドを例示することができる。光保護されたモノヌクレオチド  
5 およびその合成法については、WO1997/039151（特開2000-508542）に詳述されている。また、感光性保護基としては、オルトニトロベンジル基を例示することができる。

つまり、基板表面に選択的にレーザ光を照射後、ヌクレオチド溶液を加えると化学反応が起こり、ヌクレオチドが光をあてた部分に結合する活性化層をもつよう  
10 うに構成する。たとえば、光を照射した部分にOH-基が生成されるようにし、その後スピンコートにより塗布したモノマーと結合するようにする。

本発明では、基板上に、プリグループあるいはプリピットにより構成したアドレス情報により特定可能な格納部を設け指定した格納部において光化学反応を行う。そのため、前記アドレス情報を読み取り格納部にレーザ光を選択的に照射するわ  
15 けである。

この格納部は、プリグループの凹部、あるいは凸部、あるいはプリピットにより特定可能な領域なら平面でもサッカースタジアムのような形状をした凹ピット、凸ピットなどの形状などを用いる。またその寸法は幅が1  $\mu$ m以上、長さが1  $\mu$ m以上とすることがレーザビームスポットの大きさとの関係で好ましいが、これ  
20 に限定するものではなく、プローブDNAが格納できる寸法に設定している。

このようにアドレス情報を読み取りレーザビームスポットを格納部であるプリグループなどにトラッキングした後、DNAマイクロディスク表面の任意の格納部に選択的に光を照射する。そこでまず、アドレス1にレーザ光をあててからAヌクレオチドを加える。このAヌクレオチドの末端は保護基で保護している。Aヌ  
25 クレオチドの溶液をスピンコートにより基板上に塗布する。ただし、その保護基は光化学的に不安定なものを使う。つまりレーザ光をあてると脱保護の反応が起



きるというものである。このAヌクレオチドがアドレス1のプリグループ112の表面に結合したら、洗浄液を基板にスピンコートにより塗布し、未反応のAヌクレオチドを取り除く。

つぎにアドレス2のプリグループ114に光を照射してここを活性化し、末端  
5 に保護基をもったGヌクレオチドを反応させこれをそこに配置する。ここまです  
アドレス1のプリグループ112にAが、アドレス2のプリグループ114にG  
が結合したDNAマイクロディスクができたわけである。つぎに、アドレス1の  
プリグループ112にレーザ光を照射するとAヌクレオチドの保護基がとれるた  
めその後、Cヌクレオチドを付加する。アドレス2のプリグループ114にレー  
10 ザ光を照射しGヌクレオチドの脱保護をしてAヌクレオチドを付加する。その後  
は同じことを繰り返せば、アドレス1のプリグループ112にA-C-G-T、  
アドレス2のプリグループ114にG-A-T-CのオリゴDNAを有するDNA  
マイクロディスクが完成する。なお118のDNAマイクロディスクは便宜上  
直線的に書かれているが、実際は円盤状であり、プリグループは、117の接線  
15 方向に同心円あるいはスパイラル状に作製してある。そしてこの同心円あるいは  
スパイラル状のプリグループは半径方向に複数本（例えばトラックピッチ2  $\mu\text{m}$   
から20  $\mu\text{m}$ 程度で数1000本以上）ディスク上に整列している。

この特定のプリグループにレーザ光を照射する方法を図13のブロック図を用  
いて説明する。

20 図13はプローブDNA作製装置のブロック図である。118はDNAマイク  
ロディスクで、アドレス1のプリグループ112、アドレス2のプリグループ1  
14が設けられている。このプローブDNA作製装置においては、プローブDN  
Aの格納部としてプリグループを用いている。

118のDNAマイクロディスクは131のモータに132のターンテーブル  
25 を介して乗せられており、ディスクモータ131により回転制御される。120  
はレーザであり、121のビームエキスパンダにより平行光に変換され、122

のビームスプリッタを経て、1 2 3の対物レンズにより焦点を1 1 3のアドレス1のプリグループ1 1 2上に結ぶ。このため、対物レンズ1 2 3は1 2 5のフォーカシングアクチュエータ、1 2 4のトラッキングアクチュエータ、および1 3 0のトラバースモータにより制御され、1 1 3のアドレス1を有するプリグループ1 1 2上に焦点を結ぶように制御される。制御のために、対物レンズは1 1 3のアドレス1を対物レンズが集光した1 1 8のDNAマイクロディスクからの反射光を1 2 6のレンズをへて1 2 8の光検出器により検出し、1 1 3のアドレス1が読み取られ、位置制御される。最初レーザビームのパワーは保護基を照射した時も影響を与えないよう低パワーに調整され、ビームスポットが1 1 2のアドレス1のプリグループを追従する。そして、アドレス1のプリグループ1 1 2が検出されたときに保護基を除去するため、レーザパワーを高出力にする。つまり、レーザビームがアドレス1のプリグループ1 1 2を走査する期間のみ、レーザパワーを高出力に設定する。

図1 4はプローブDNA作製装置のブロック図である。1 2 0のレーザは1 4 6のレーザパワー変調器によりレーザパワーが変調される。1 2 8の光検出器の出力は1 4 0のプリアンプにより光出力が電流に変換され、プリグループ1 1 2のアドレス1の情報が検出され、デコーダ1 4 1により復調され、1 4 2のCPU（コントローラ）に送られる。プリグループ1 1 2の位置が読み取られた後、前記プリグループ上において行う光化学反応に適合したレーザパワーが、CPU 1 4 2により演算され、1 4 3の照射パルス制御部により出力される。そして、1 4 6のレーザパワー変調器を経由して、1 2 0のレーザの出力レーザパワー、出力パルス幅、等が制御され、レーザの光出力がプリグループ1 1 2を照射する。1 2 0のレーザから出力されるレーザパワーは、光化学反応に適した値になるようにパルス幅、パルスピーク値が制御されるが、DNAマイクロディスクとレーザビームスポットとの相対速度により、パワーを変える必要があるため、1 4 7のサーボ部より1 3 1のディスクモータの回転数情報が、CPU 1 4 2に入力さ

れ、パワー制御のための情報として使用される。例えば光化学反応に大きなレーザーパワーが必要なときは、相対速度を低下させ、対象のプリグループ上に大きな光エネルギー（プリグループ上に与えられた光エネルギーの積分値）を与えることができる。147のサーボ部は123の対物レンズの出射光ビームをDNAマイクロディスクのプリグループ上に、フォーカシング、トラッキングするため動作も行う。

なお145のPCはプローブDNA作製装置をコントロールするためのパソコンであり、インターフェース（I/F）144を介して、プローブDNA作製装置全体の動作をコントロールする。例えば、DNAマイクロディスク上のアドレス情報により特定できるプリグループの総数は、100万カ所以上とすることが可能であり、プローブDNA作製装置内部のCPU142だけではどのアドレスにどのようなDNAを生成するかをコントロール出来ないため、外部のパソコンによる制御が必要になる。

図15に動作波形図を示す。141は読み取られたアドレス情報の1例を示す。120のレーザーの光出力は、再生光パワー148によりアドレス情報を読み取り、特定のアドレスを有するプリグループに、149のピークパワーを持つレーザー光を照射する。

特にプリグループ上において光化学反応を生じさせるときには、光エネルギーの積分値が重要であり、照射レーザーパワーのはじめのパルス幅を大きくし、その後パルス幅をちいさくすることにより、プリグループ上に設けた光保護基に対する適切な反応エネルギーを与えることができる。

このように、DNAマイクロディスク表面の任意の微小な部位（プリグループ）に光を当てるトラッキングサーボ技術と、光の照射で脱保護反応が起きる保護基を持ったヌクレオチドを用いたDNA合成反応により、「オリゴDNAマイクロディスク」の作製が可能になる。レーザー波長については、350nm程度が脱保護基のためには好適であることが分かっている。また複数のレーザー波長を選

択して用いることにより、光化学反応にたいする働きを変えることも可能である。例えば、光保護基やモノマーの性質を波長依存性の強いものにより、モノマーの反応を波長を変えることにより選択的に行うことができる。最終的に作製されたプローブDNAはレーザビームを走査することにより、プローブDNAが正常に作製されたものかどうか判別できる。判別する方法としては、プローブDNAを走査し、正常に動作するプローブDNAと反射率、色、等を比較し、行うことが可能である。

そして、同じ種類のプローブDNAを複数個作製しておき、正常なものを判別し、管理することができる。そして最終的にはカスタマーはその最終的に正常とされたプローブDNAを管理データより知り、そのアドレス情報を持つプローブDNAだけを使用することができるわけである。管理する方法としては、正常に作製できたプローブDNAの存在するアドレス情報をDNAマイクロディスク上に保管することにより可能としている。これは記録できるゾーンをDNAマイクロディスクに備えているので、その箇所に情報を保管する。

最後に以上のように作製した基板上のプローブDNAを用い、mRNAの解析を行うときの方法については、公知のDNAチップと同じプロセスにより、検査対象試料とハイブリダイゼーションさせ、塩基結合させた後、プローブDNAに検査用レーザビームを照射し、蛍光を観測しておこなう。この時、本発明のDNAマイクロディスクを用いたときには、DNAスポットを1次元に走査可能であるので、高速に検査を行うことができる。プリグループ上にプローブDNAを配置したので、塩基結合したプローブDNA（DNAスポットと呼ぶ）の検出S/Nを向上させることが出来、そのための光学測定部と、サーボ部を備えることにより、塩基結合計測の高速化と操作性の向上および低価格化を実現する。そして制御部を構成する光学測定部をDNAスポットの読取光学測定部と独立に設け、サーボ誤差を検出するためのビームスポットがDNAスポットに含まれる蛍光体を劣化させないようにできた。また、DNAマイクロアレイの読み取りビーム光

の位置制御を、サーボ機構を用いて精度良く行い、フォーカス、トラッキング方向の誤差を無くし、正確に走査することが実現できた。

また、読取レーザビームによる蛍光体の退色を防止し、DNAスポットの読取S/Nを向上させるため、読取レーザ光を高周波（例えば100-500MHz）で振幅変調することも可能である。このように変調することにより、基板上において、照射エネルギーの蓄積が少なくなることが分かっており、退色を防止できる。

以下本発明のDNAマイクロディスクを計測するための最良の形態を具体的に示した実施例について、図面とともに記載する。

以下、図16、図2を用いて、本発明における計測の実施例の概略構成を図示する。

図16は、図2に示したDNAマイクロディスクを読み取る装置の構成を示すブロック図、図2はDNAマイクロディスクである。

図16において、1はDNAマイクロディスクで、152のディスクモータにより、回転制御される。153は対物レンズで、DNAマイクロディスク上に形成されたDNAスポットにレーザビームを集光し、反射した光を集める。153の対物レンズは、154の対物レンズアクチュエータ、フォーカス素子154a、トラッキング素子154b、により、DNAマイクロディスクの基板に対して垂直方向（153bのZ方向）と、DNAスポット列にレーザビーム先を追従させるトラッキング方向（153aのX方向）、に可動させることができる。

155は蛍光励起用光源（出力光波長 $\lambda_1$ ）で、この場合、650nmの波長のレーザを用いている。156はコリメータレンズ1で、155のレーザの出力光を平行光、あるいは規定の角度をもった発散光に変換し、159のハーフミラー、160のビームスプリッタ1を経由して、153の対物レンズにより、1のDNAマイクロディスク上に焦点を結ぶ。規定の角度をもった発散光に変換する理由は、焦点を結んだ時のビームスポットの大きさを、DNAスポットの大きさ

と同程度にするためである。またこのとき波長 $\lambda_1$ の光源から出射する光束は対物レンズに入射する前に開口制限が設け、対物レンズのNAを実質的に小さくなるようにしてもいい。

この開口制限は、図14において、156のコリメータレンズの出射側に設けることができる。例えば対物レンズのNAとして0.6のものをを用いた時でも、波長 $\lambda_1$ の光に対しては、NAが0.5で、波長 $\lambda_3$ のサーボ用の光に対しては、0.6となるようにした。このようにすることにより、サーボ誤差検出感度を高くでき、かつDNAスポット読取ビーム径を大きくできる。

157はサーボ用光源（出力光波長 $\lambda_3$ ）であり、158のコリメータレンズ2、159のハーフミラーを経て、160のビームスプリッタ1を経由して、153の対物レンズにより1のDNAマイクロディスク上に焦点を結ぶ。DNAマイクロディスクで反射された反射光は、153の対物レンズ、160のビームスプリッタ1を経て、164のビームスプリッタ2により、165の集光レンズ2を経て、166のサーボ誤差検出器上に導かれる。

15 一方、153の対物レンズにより、1のDNAマイクロディスク上に集光した155の蛍光励起用光源（出力光波長 $\lambda_1$ ）の出力光は、1のDNAマイクロディスク上のDNAスポットに含まれる蛍光体を励起し、励起された波長 $\lambda_2$ の光は153の対物レンズにより集められ、160、164のビームスプリッタを経て、161の集光レンズ1で集光された後、162の光学フィルタにより、励起された光の波長 $\lambda_2$ だけが選択されて163の蛍光読取検出器に導かれる。この  
20 時、160、164のビームスプリッタ1、2は波長 $\lambda_1$ のレーザで励起されたDNAスポット中の蛍光体の発光波長 $\lambda_2$ を通過させ、14のビームスプリッタはサーボ用光源の出力波長 $\lambda_3$ の光を反射し、162の光学フィルタは波長 $\lambda_2$ だけを透過させるように構成している。167のサーボ用光源の出力光は168  
25 のコリメータレンズ2により平行光に変換される。

そしてこのスポットの形状は、167のシリンドリカルレンズにより、153

の対物レンズで集光された時に、焦点前後において、集光したスポットの形状が変化する。すなわち、166のサーボ誤差検出器上において、真円から楕円に変化する。この変化を166の光検出器を4分割したサーボ誤差検出器により、測定する。検出器の中央にほぼ真円の状態にDNAマイクロディスクから反射した  
5 ビームが投影された時に、153の対物レンズが合焦点になったことを示す。同時に、サーボ用光源の出力光は、168の回折格子により、1のDNAマイクロディスク上のDNAスポットあるいはプリグループ上に図17に示すように、対物レンズ153を出射した光ビームS1, S2, S3が形成される。このうちS1, S3で示した光ビームは、166のサーボ誤差検出器のD1, D2により受  
10 光し、その出力の差がトラッキング誤差となる。

図17はDNAマイクロディスクと読取レーザビームおよびサーボ用レーザビームが形成するビームスポットの相対関係を示す原理図である。

図17において、171はプリグループでP1, P2, P3で示している。プリグループの中は1~100  $\mu\text{m}$ 、高さは0.1~10  $\mu\text{m}$ の凸または凹、プリ  
15 グループの間隔は1~150  $\mu\text{m}$ 程度に設定する。171のプリグループ上に173のDNAスポットが形成されている。172はサーボ用ビームであり、171のプリグループP2を照射した状態を示している。

サーボビームS1が図14に示すサーボ誤差検出器D1に、S2はD3に、S3はD2に照射する。

20 170はDNAスポット読取ビーム（波長 $\lambda_1$ ）であり、173のDNAスポットを照射し、173のDNAスポットに含まれる蛍光体を励起し、波長 $\lambda_1$ による波長 $\lambda_2$ の励起光は、図16の蛍光読取検出器163により読み取られる。サーボ用光源（波長 $\lambda_3$ ）から形成されるサーボビームはDNAスポットを照射するが、DNAスポットの蛍光体を励起できる波長にならないよう設定している  
25 （例えば780 nm）ので、DNAスポットを退色させることはない。

## 産業上の利用可能性

以上のように構成した本発明は、次に述べる効果を奏することができる。

DNAマイクロディスク上のプリグループにプローブDNAを正確にスポッティングしたDNAマイクロディスクを使用した場合は、読取ビームを1次元方向  
5 に走査すればよいので、読取速度を早くできる。そのため、DNAスポットを1回だけ走査すれば読取が完了し、従来の2次元走査による画像化を不要にした。

さらに、基板にプリグループを設けたDNAマイクロディスクを用いたため、  
基板上に従来より多くのDNAスポットを設けることができ、例えば10万スポット以上のDNAスポットを有するDNAマイクロディスクを作ることができる。  
10 基板上に金などの薄膜を設け、その上に $\text{SiO}_2$ などの薄膜を設けたため、基板上にレーザを照射したとき、その反射光量が大きくなり、DNAマイクロディスク上のDNAスポットを検出する時の $S/N$ が大きくとれる。

また基板材料として樹脂を用いることが出来、全体システムを安価に構成できる。樹脂を基板材料に用いた時でも、基板の両面に対称に薄膜を設けたため、ハイブリダイゼーション時にも基板の反りが最小に抑圧できる。  
15

スポッティング時に、スポッティング液を1種類ずつ別のタンクに収納し、前記タンクにスポッティング液の種類、名前等を表示する表示部を設けたので、スポッティング時に間違った液をスポッティングすることがない。

高速でスポッティングするため、1枚のDNAマイクロディスクにロータリー  
20 テーブルを複数個組み合わせて、スポッティングできるため、1つ当たりのスポッティング時間が節約でき、スポッティングの時間が減少した。

DNAマイクロディスク上のプリグループにおいて、プローブDNAを光化学反応により合成する際には、レーザビームスポットを指定したアドレスを有するプリグループにレーザビームを照射することにより、合成を行うことが出来、この時、レーザ光の制御のみにより可能であるので、従来のようなマスクを使用する  
25 必要がない。また、レーザビームを制御することにより、毎回異なるプローブ



DNAを作製でき、カスタムDNAチップを簡単に作製できる。

なお本発明では、基板上に、アドレス情報により特定が出来るプリグループを設けた実施例により説明したが、プリグループの代わりにアドレス情報により特定が出来る格納部であれば平面部、あるいは凹面部、凸面部を用いることも可能である。つまり、アドレス情報を有するプリピットにより特定可能な格納部を設け、指定した格納部において光化学反応を行う。そのため、前記アドレス情報を読み取り格納部にレーザ光を選択的に照射するわけである。

この格納部は、プリグループの凹部、あるいは凸部、あるいはプリピットにより特定可能な領域なら平面でもサッカースタジアムのような形状をした凹ピット、凸ピットなどの形状なども用いることができる。またその寸法は幅が1  $\mu\text{m}$ 以上、長さが1  $\mu\text{m}$ 以上とすることが現在のレーザビームスポットの大きさとの関係で好ましいが、これに限定するものではなく、プローブDNAが格納できる寸法に設定できればどのような寸法に設定しても良い。

DNAマイクロディスクあるいはDNAマイクロアレイのDNAスポットを照射するレーザビームを、サーボ用のレーザビームと読取用のレーザビームの両方をもたせることにより、DNAスポット上に正確に読取用レーザビームを位置決めでき、DNAスポットの蛍光体を効率よく励起でき、蛍光測定の感度を向上させた。もちろん、DNAマイクロスポットを配置する基板のそりなど変形、またDNAスポットの配置位置のずれがあってもサーボにより、スポットの正確な位置が検出でき、読取ビームが正確にスポットを照射するようにできた。また、読取ビームを高周波で変調することにより、蛍光体の退色を防止し、従来よりも大きな読取レーザピークパワーを照射できるようになった。

特に、マイクロディスク基板を使用した場合は、読取ビームを1次元方向に走査すればよいので、読取速度を早くできる。そのため、DNAスポットを1回だけ走査すれば読取が完了し、従来の2次元走査による画像化を不要にした。

## 請求の範囲

1. 基板にプリグループを設け、前記少なくともプリグループ上にプローブDNA又は蛋白と接着性が良好な薄膜を設けた上で、前記プリグループの凸部または凹部にプローブDNA又は蛋白を含む液滴を配置して、液滴の表面張力及び／又は凹部の場合、凹溝の壁によってグループに直角方向の広がりを制限された状態でプリグループの接線方向に広がり、その状態でプローブDNA又は蛋白を前記基板上に固定させていることを特徴とするマイクロアレイディスク。
2. 前記基板にプリグループを設け、前記プリグループの凸部または凹部に前記プリグループの番地情報を設けたことを特徴とする請求項1記載のマイクロアレイディスク。
3. 前記基板上には液滴をスパイラル状、あるいは同心円状に配置することを特徴とする請求項1記載のマイクロアレイディスク。
4. 前記基板上に回転位相を示すマークを設けたことを特徴とする請求項3記載のマイクロアレイディスク。
5. 前記マイクロアレイディスクにおけるプローブDNA又は蛋白の設置領域について、そのプリグループ上の接線方向の長さがそれに垂直な方向の幅に対して2倍以上であることを特徴とする請求項1記載のマイクロアレイディスク。
6. 基板上に反射膜を設け、前記反射膜上に前記基板の屈折率より小さく、空気の屈折率よりも大きな光透過膜を少なくとも1層以上設け、前記基板上にプローブDNA又は蛋白を含む液滴をスポッティングしたことを特徴とする請求項1記載のマイクロアレイディスク。
7. 前記基板上に薄膜からなる層を少なくとも1層以上設け、基板側から波長 $\lambda_1$ のレーザービームを照射し、プリグループの位置を検出するときには前記基板を前記照射したレーザービームの一部は透過し、前記基板上に配置された液滴を計測するために、検出波長 $\lambda_2$ のレーザービームを基板の反対側から照射したときに

は、一部が反射することを特徴とする請求項 1 記載のマイクロアレイディスク。

8. 前記基板上的のプリグループの凸部または凹部に、プローブ DNA 又は蛋白を含む液滴を配置するために、1) 前記プリグループの位置を検出する機構、  
2) プローブ DNA 又は蛋白を含む液滴を吐出できる機構により、プリグループ  
5 上にプローブ DNA 又は蛋白を含む液滴を配置することを特徴とする請求項 1 記載のマイクロアレイディスクを作成するためのスポッティング装置。

9. 前記プリグループに対物レンズを経由してレーザ光を照射し、反射光を第 1 の光検出器により受光し、前記対物レンズの出射光が前記プリグループに追従するように前記対物レンズの位置を制御可能にしたトラッキングサーボを構成し  
10 たうえ、前記プリグループにプローブ DNA 又は蛋白を含むスポッティング液を吐出する装置を設け、前記吐出装置の吐出口と前記プリグループの相対位置を検出するために、前記プリグループを透過した光を検出する第 2 の、少なくとも 2 分割セルを有する光検出器を設け、前記第 2 の光検出器の 2 分割セルの各出力の差を得るための差動増幅器出力を用い、前記トラッキングサーボを構成する光学  
15 ブロックと、前記吐出装置と第 2 の光検出器を一体に移動制御するトラバースユニットモータを駆動制御し、前記吐出装置から吐出するスポッティング液を前記プリグループ上に配置することを特徴とする請求項 8 記載のスポッティング装置。

10. プローブ DNA 又は蛋白を含むスポッティング液を入れたタンクに前記スポッティング液の名前を読み取るための標識を設け、スポッティング時にスポ  
20 ッティング装置により前記標識を読み取り、前記スポッティング液をアドレス情報を有するプリグループ上に、スポッティングし、前記標識および前記アドレス情報の対応関係をスポッティングしたディスク上に記録したことを特徴とする請求項 8 記載のスポッティング装置。

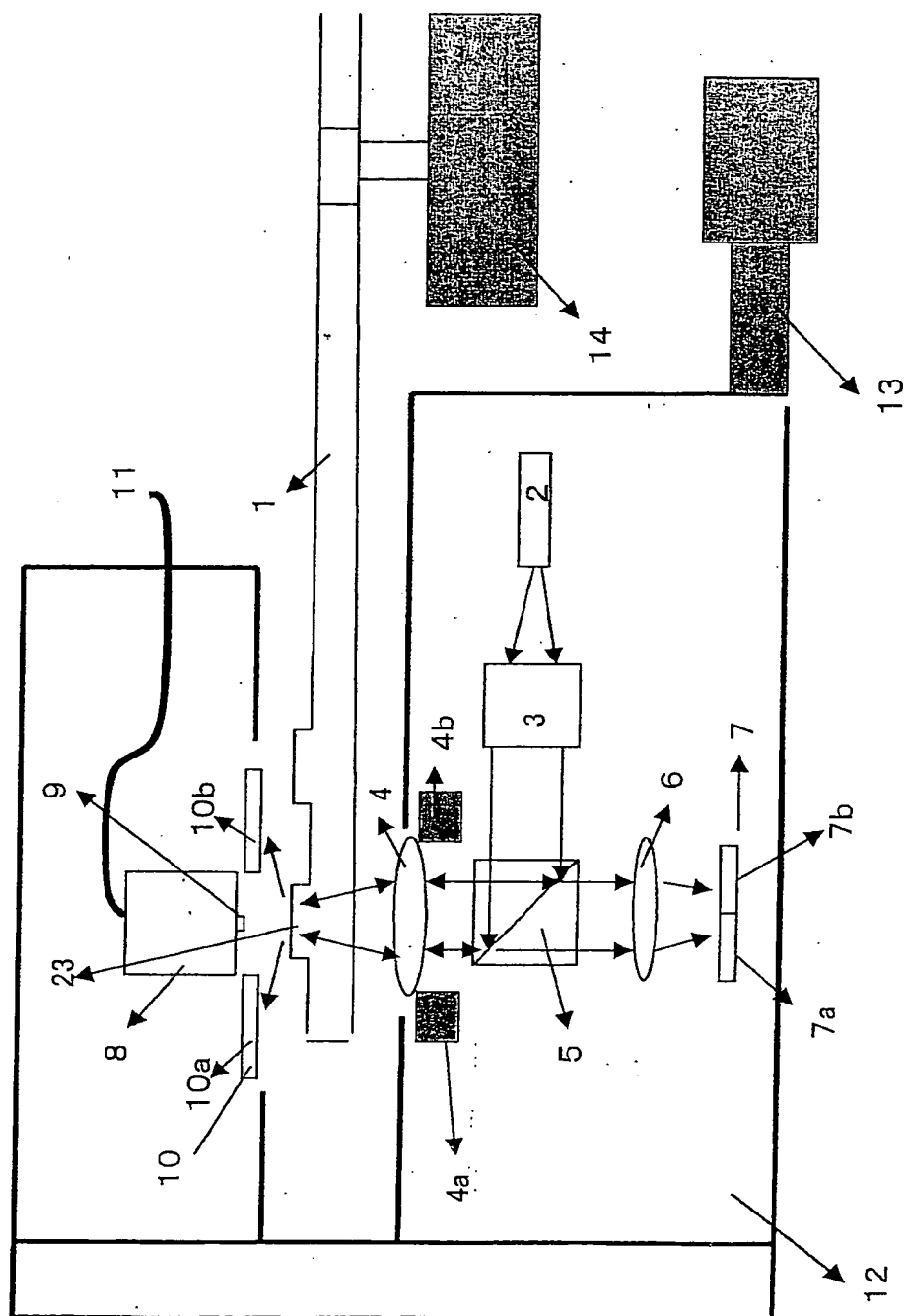


図1

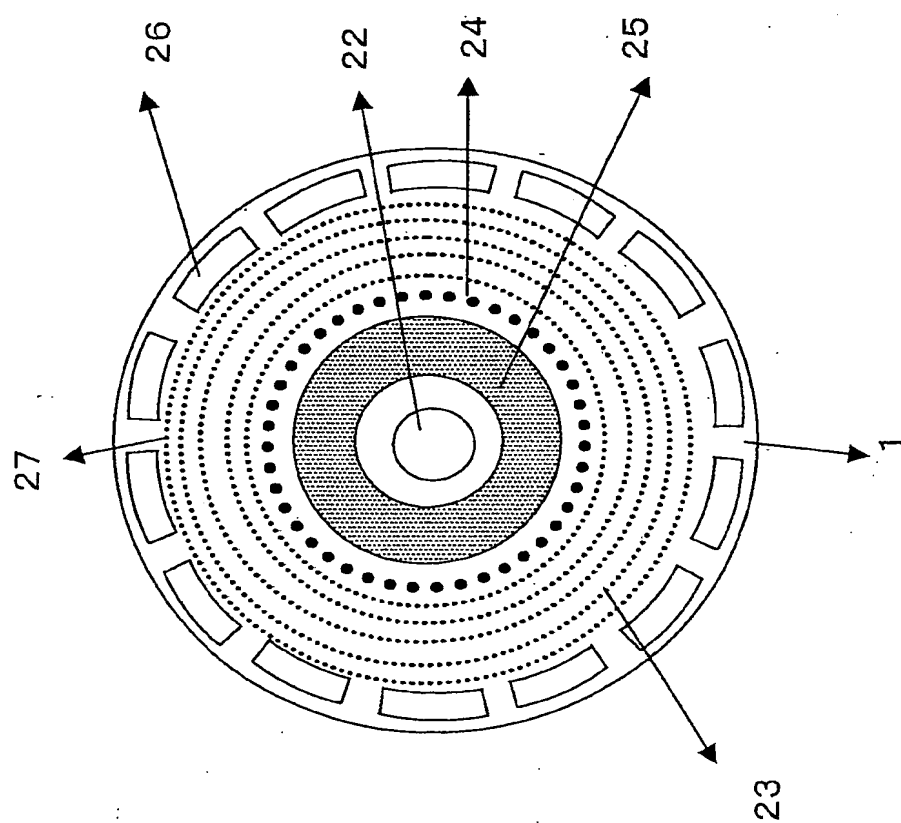
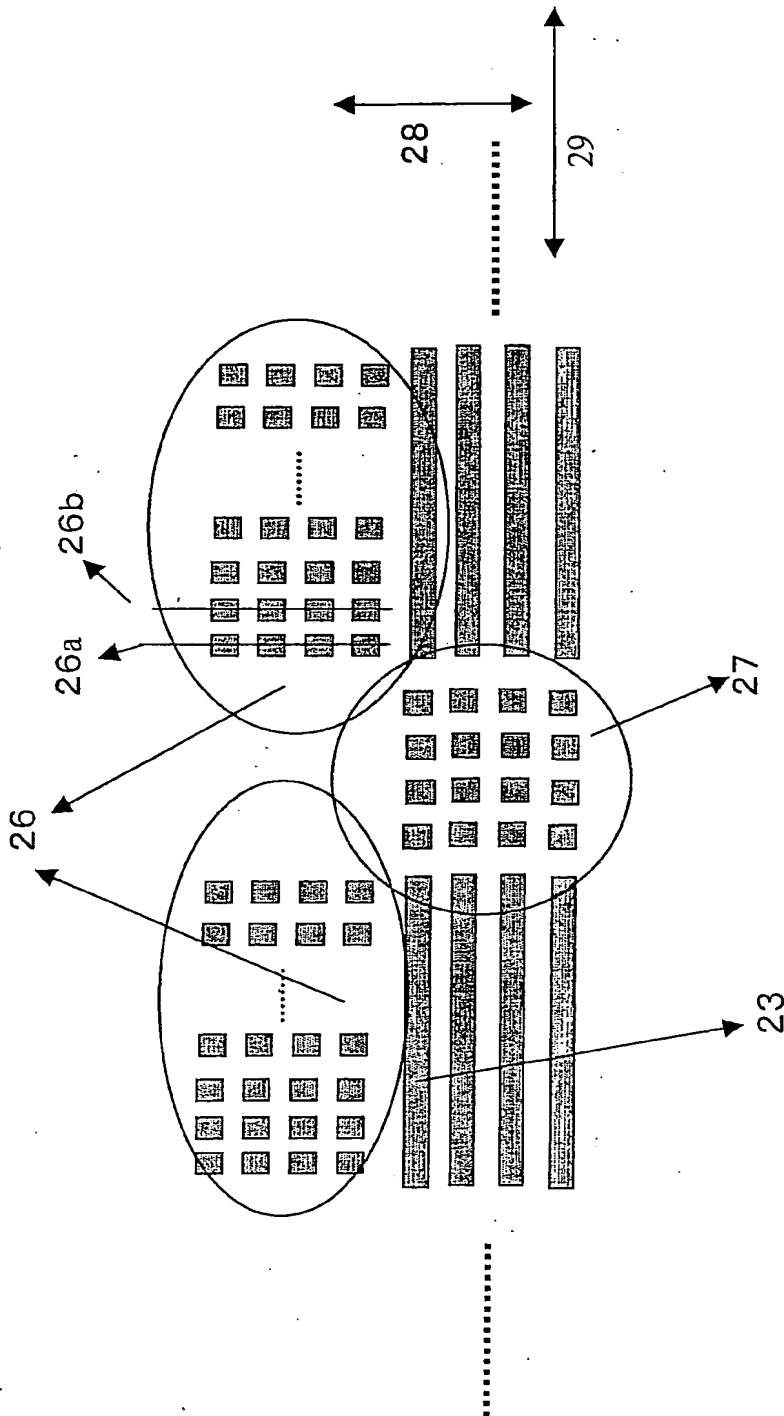


図2

差替え用紙(規則26)



差替え用紙 (規則26)

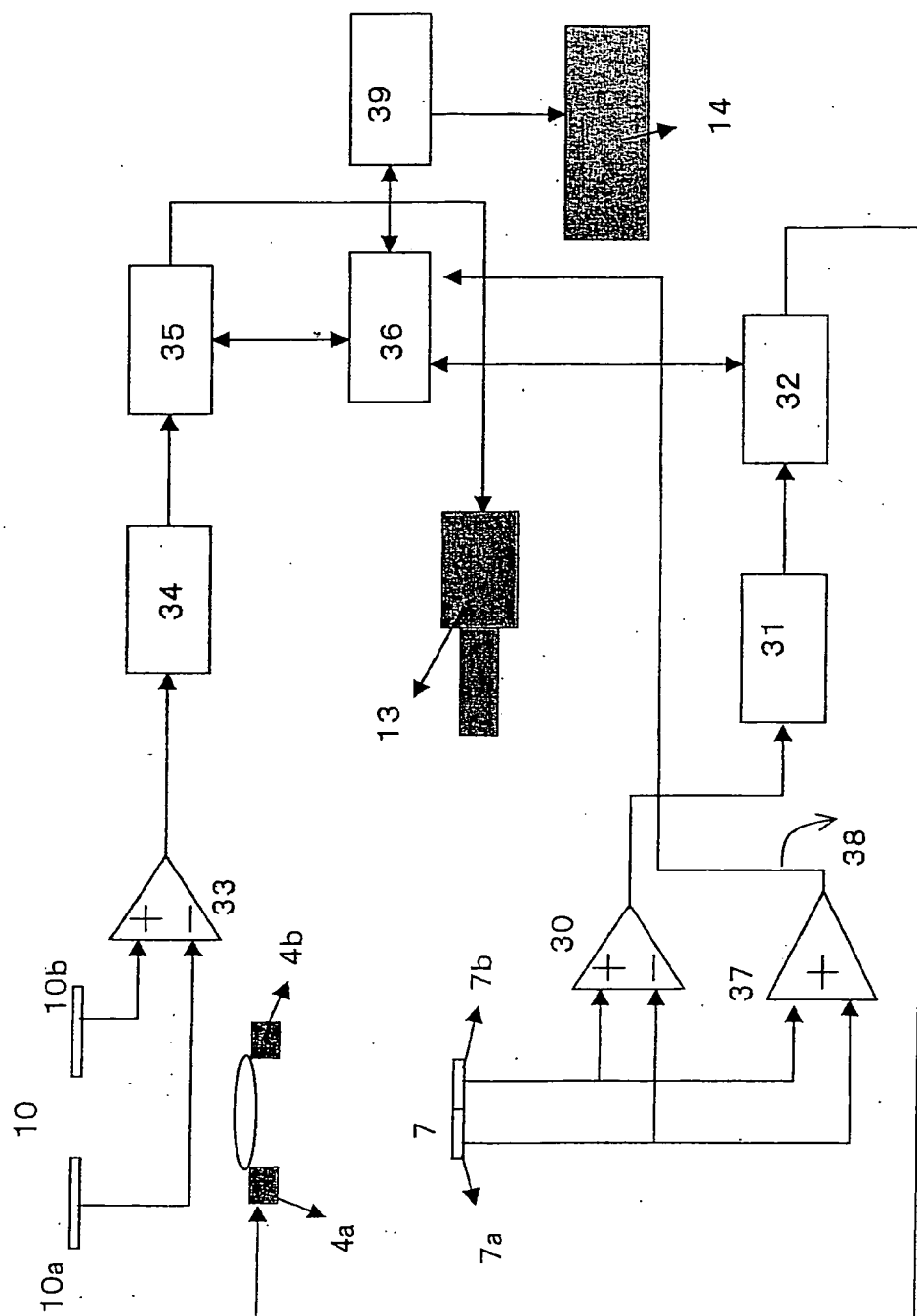


図3

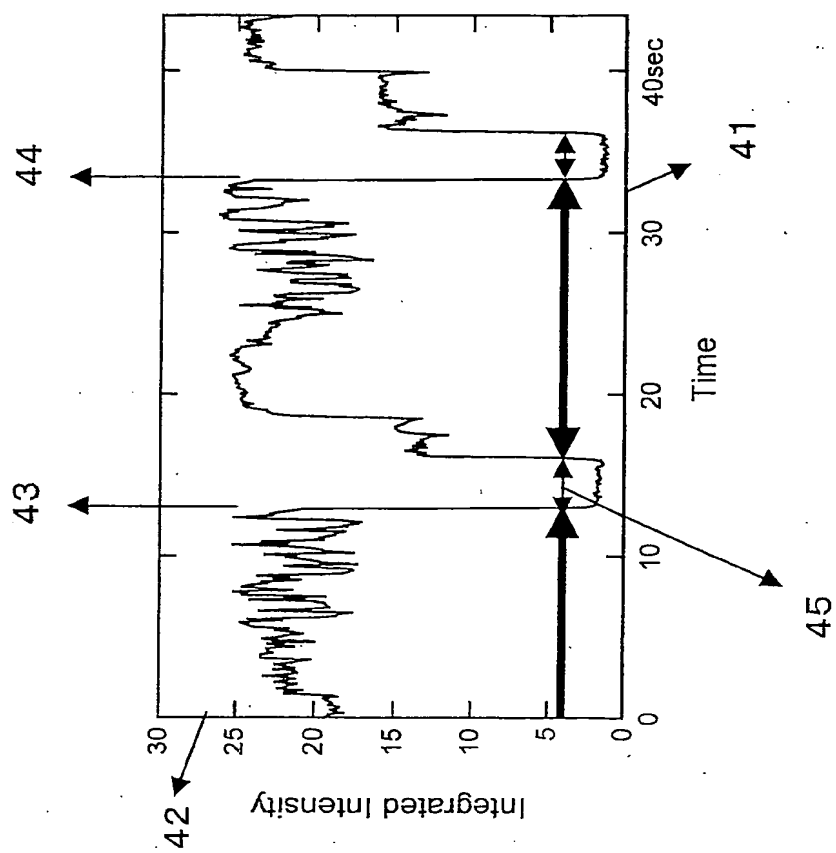


図4



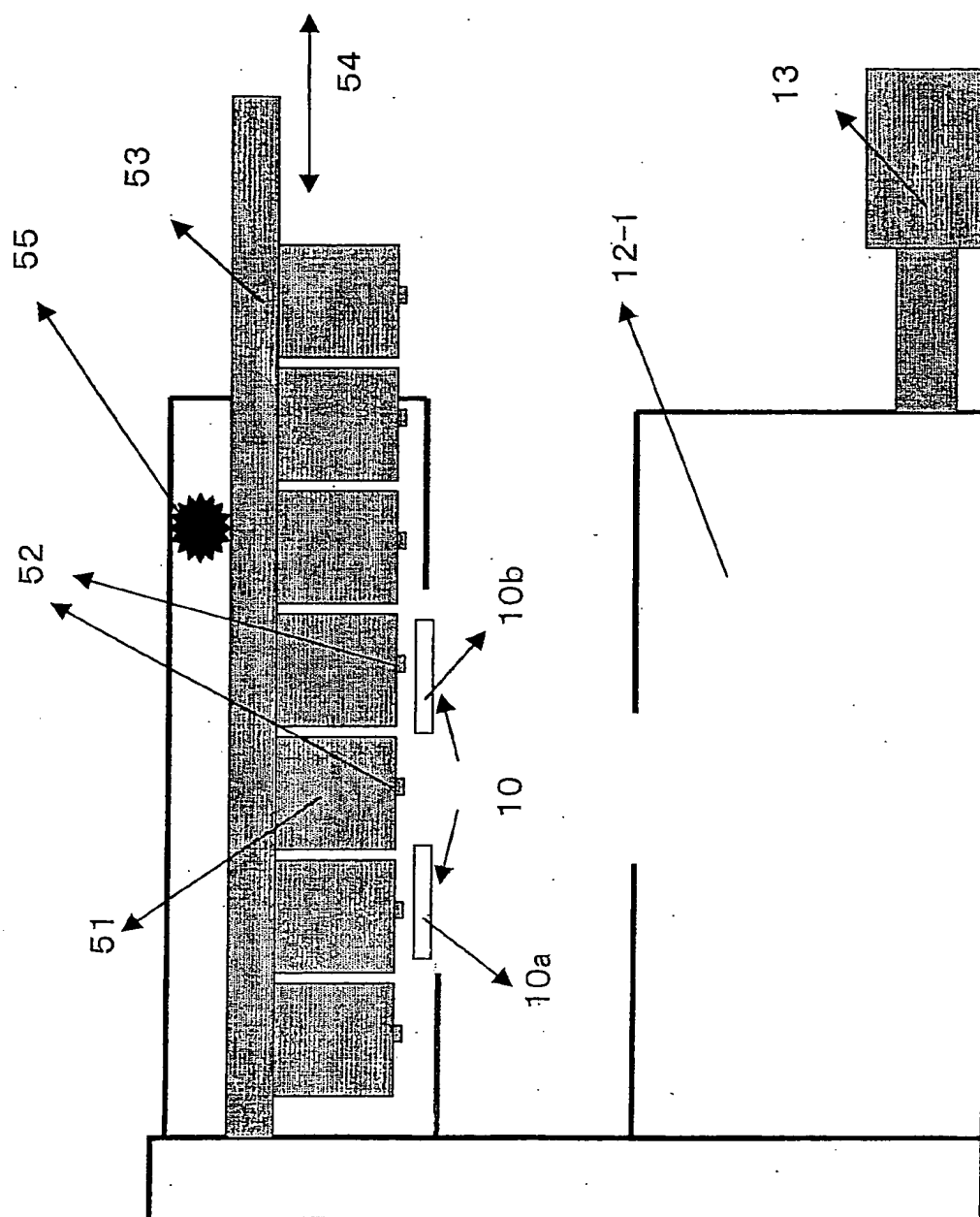


図5

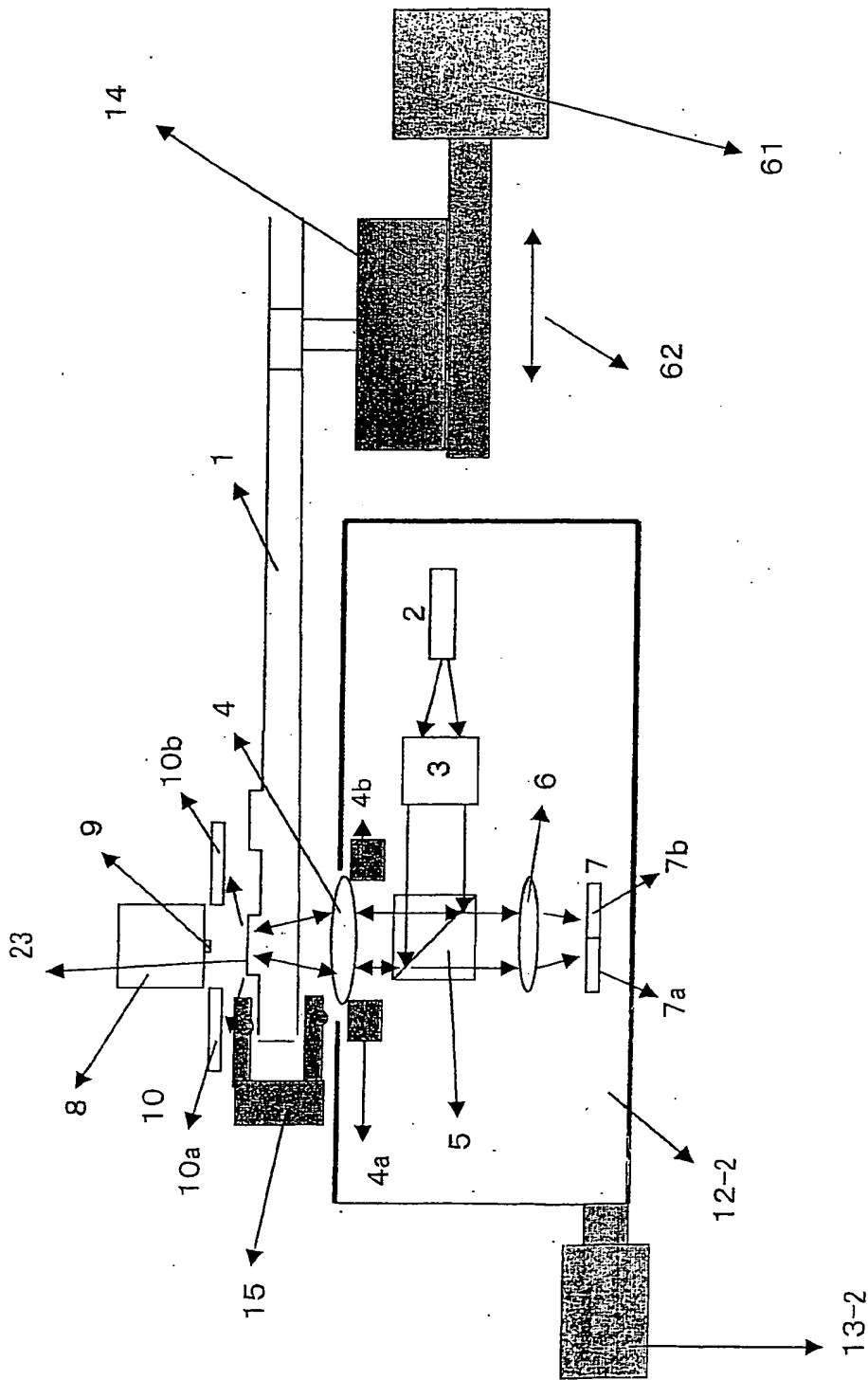
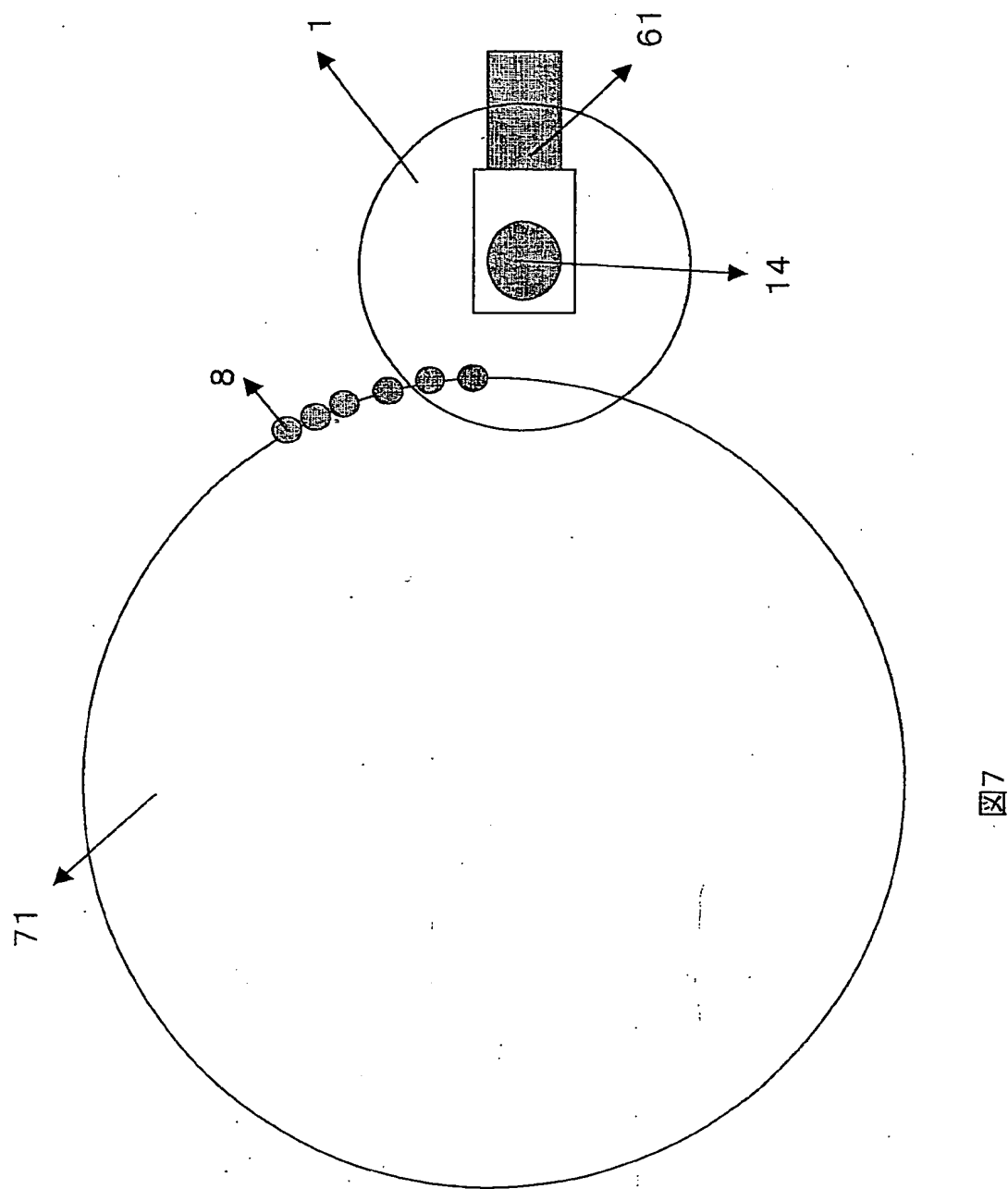


図6



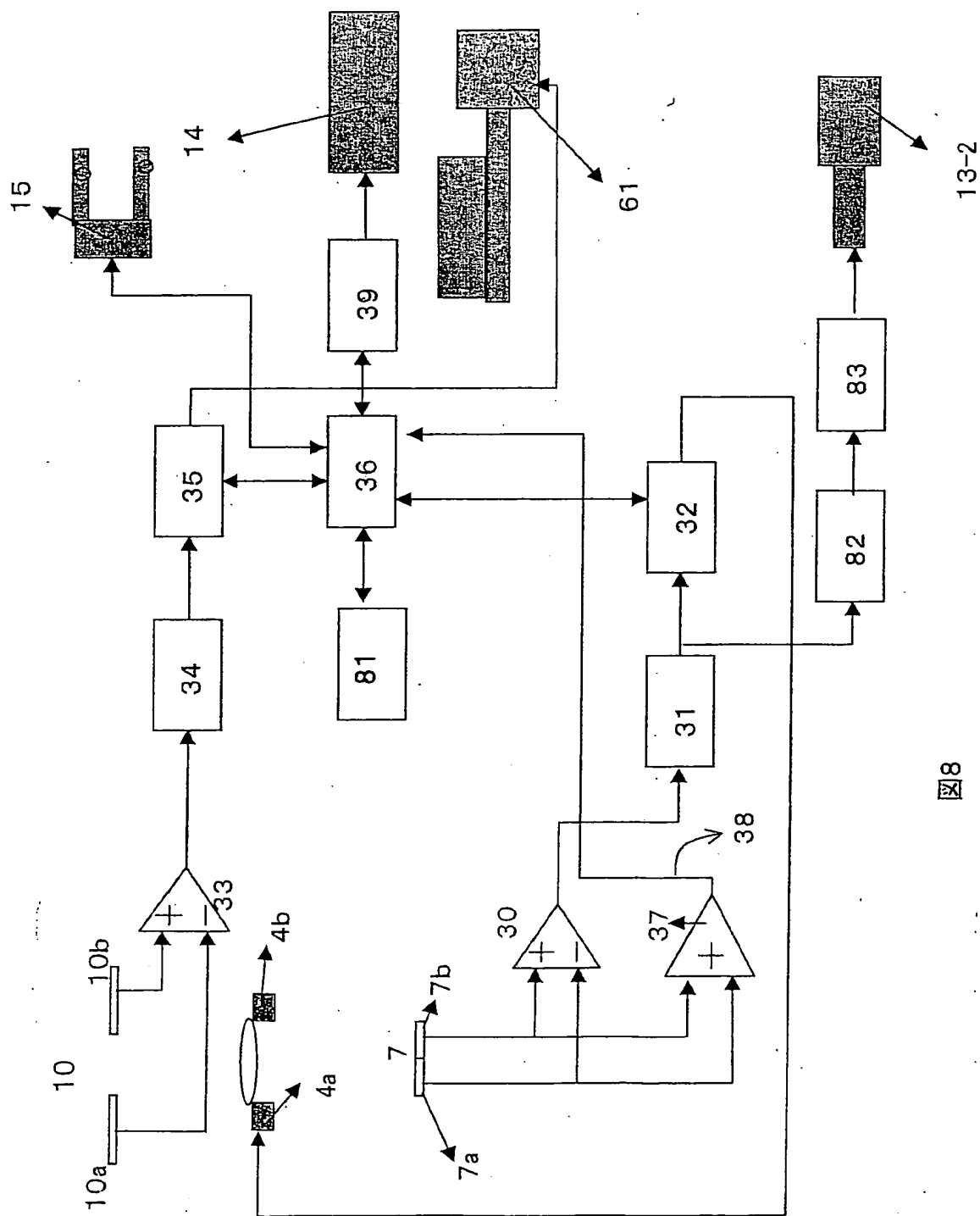


図8

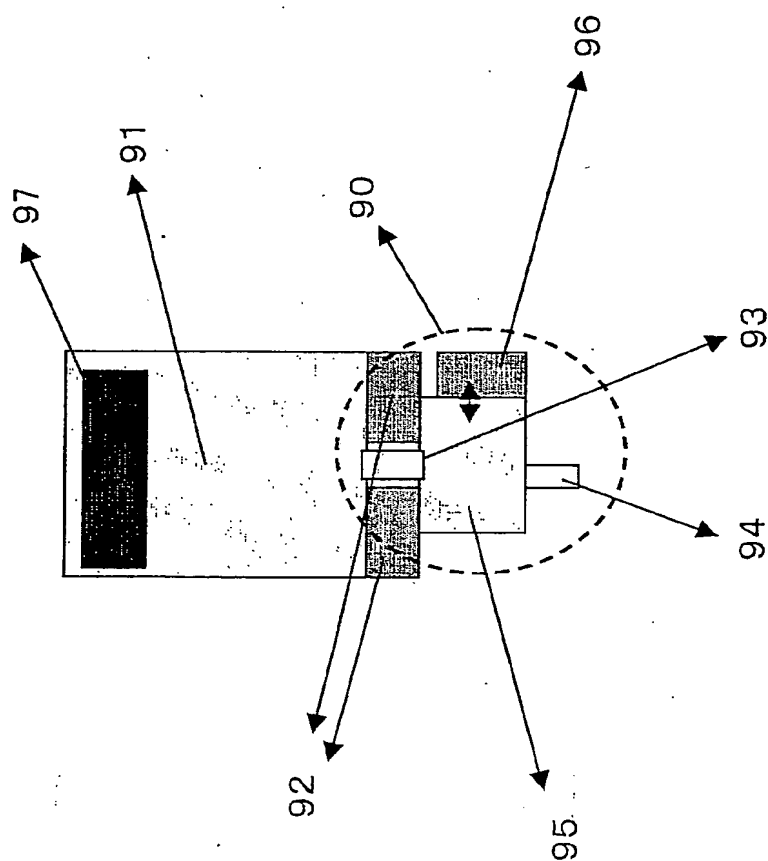


図9

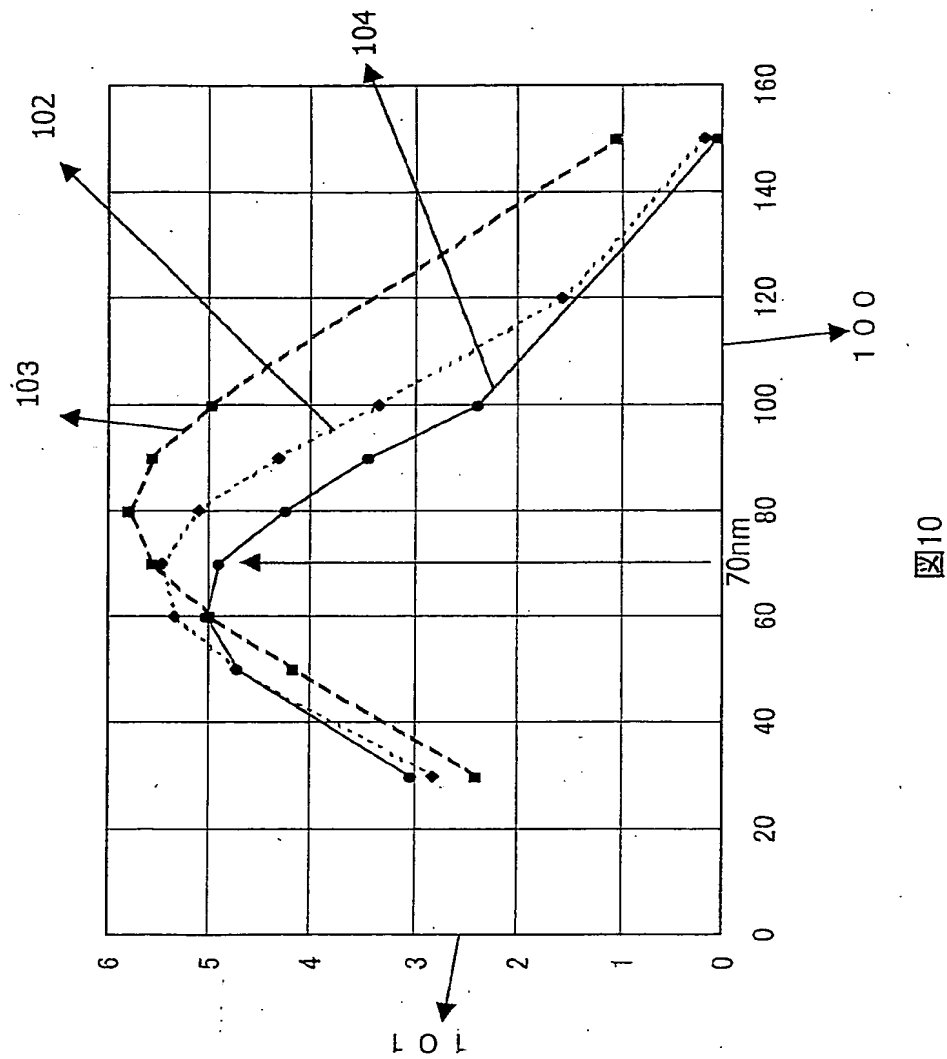


図10

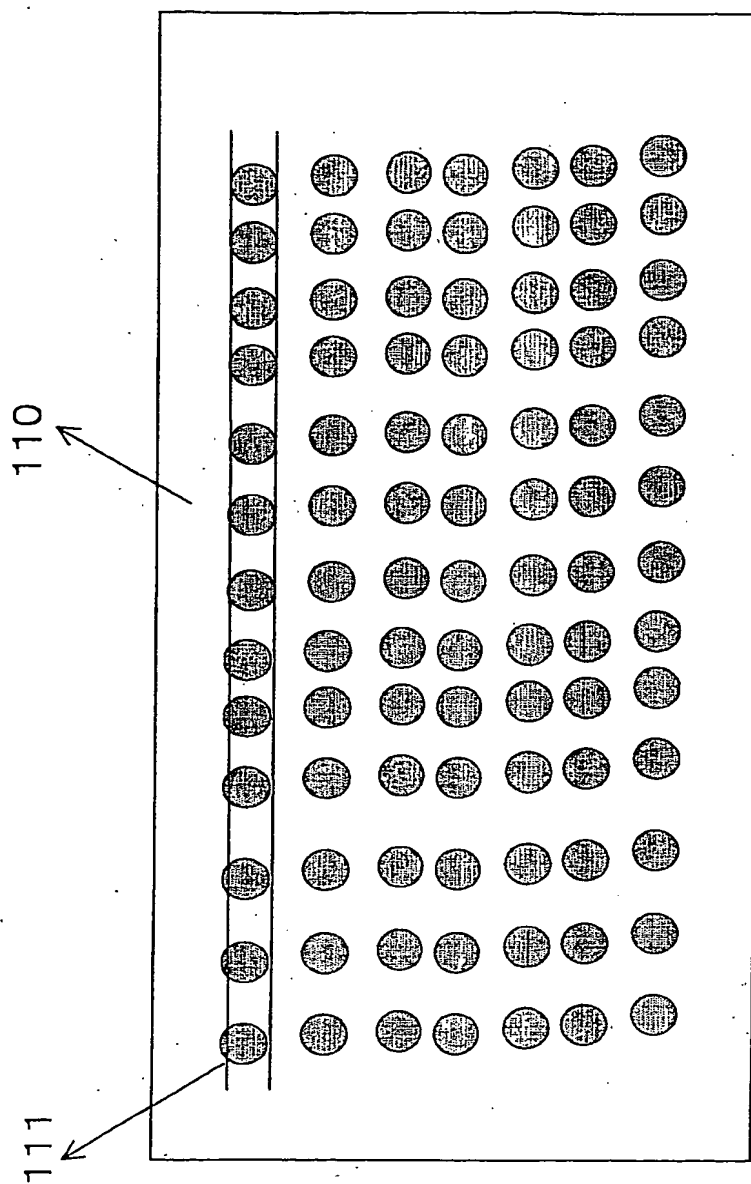


図11

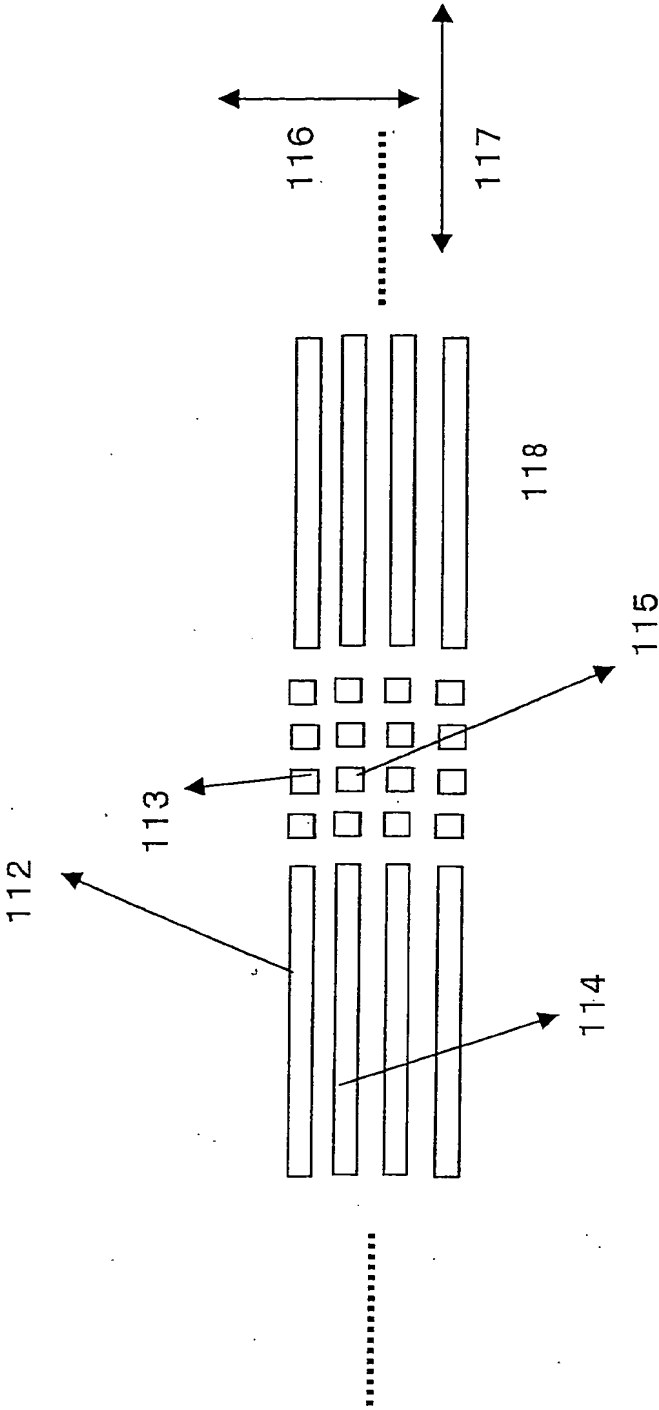
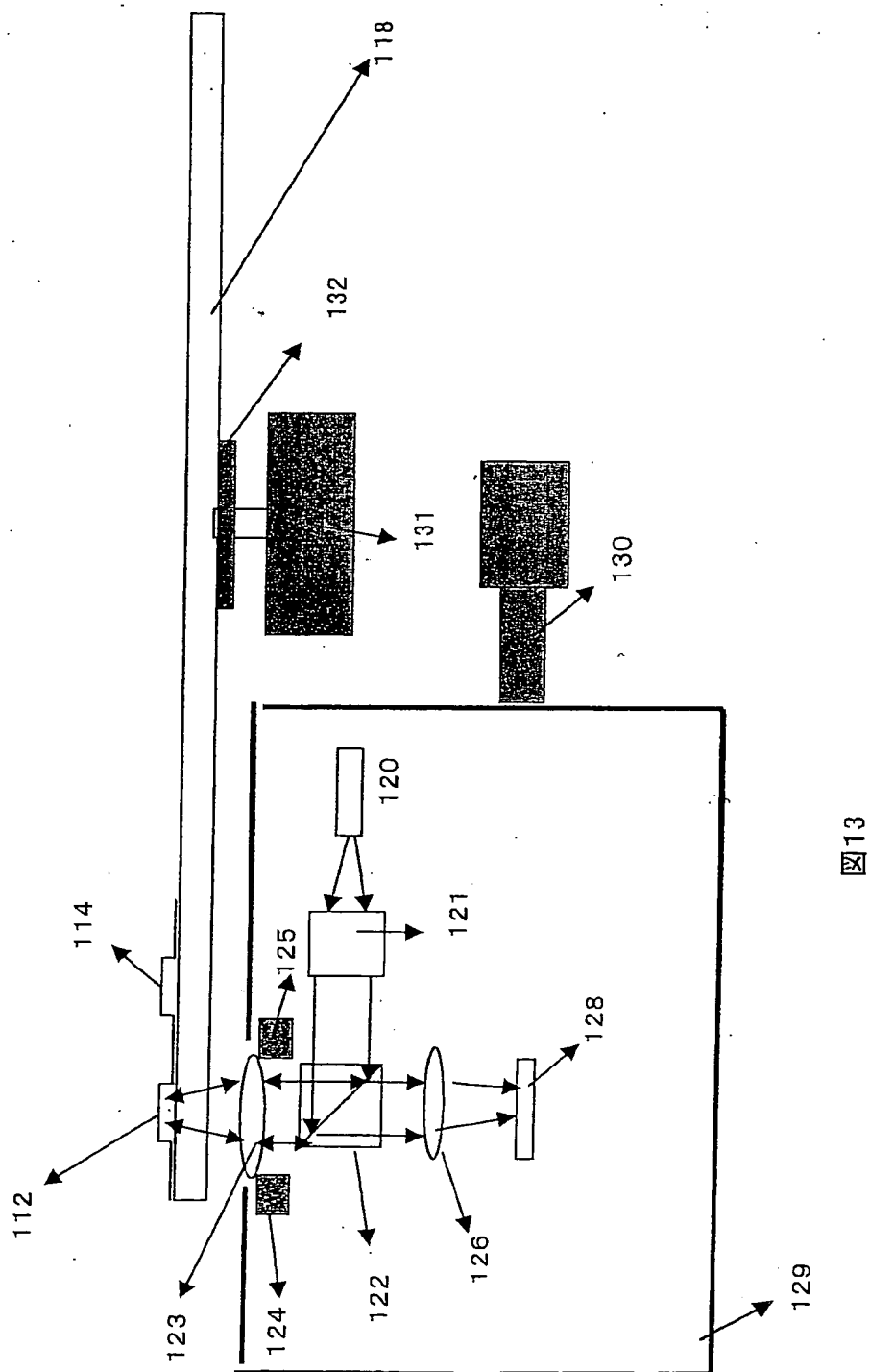


図12







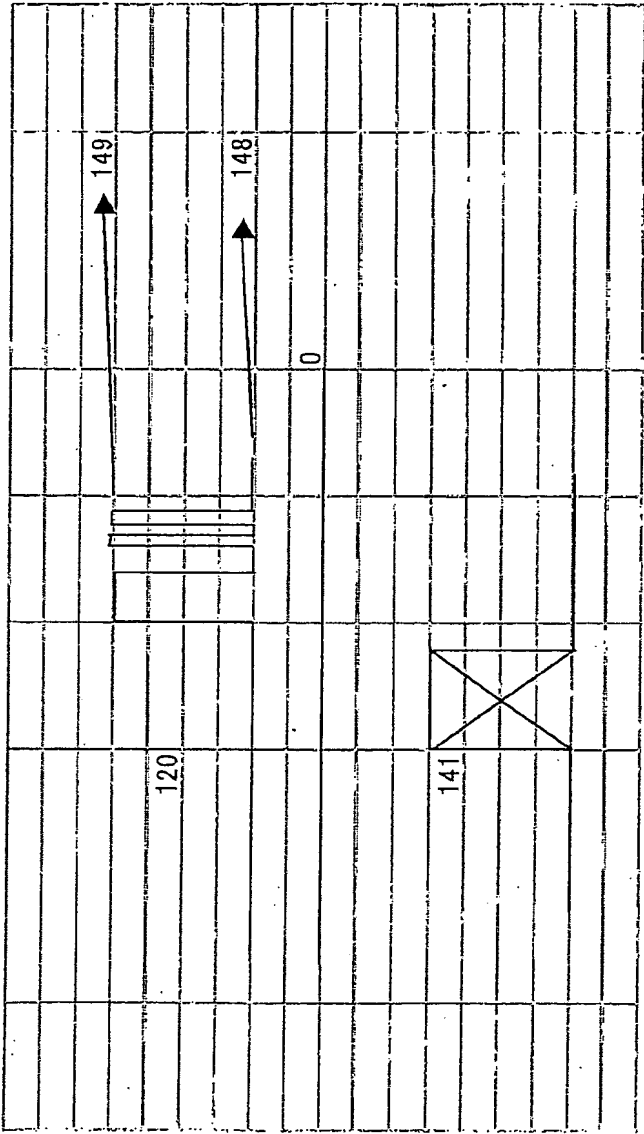


図15



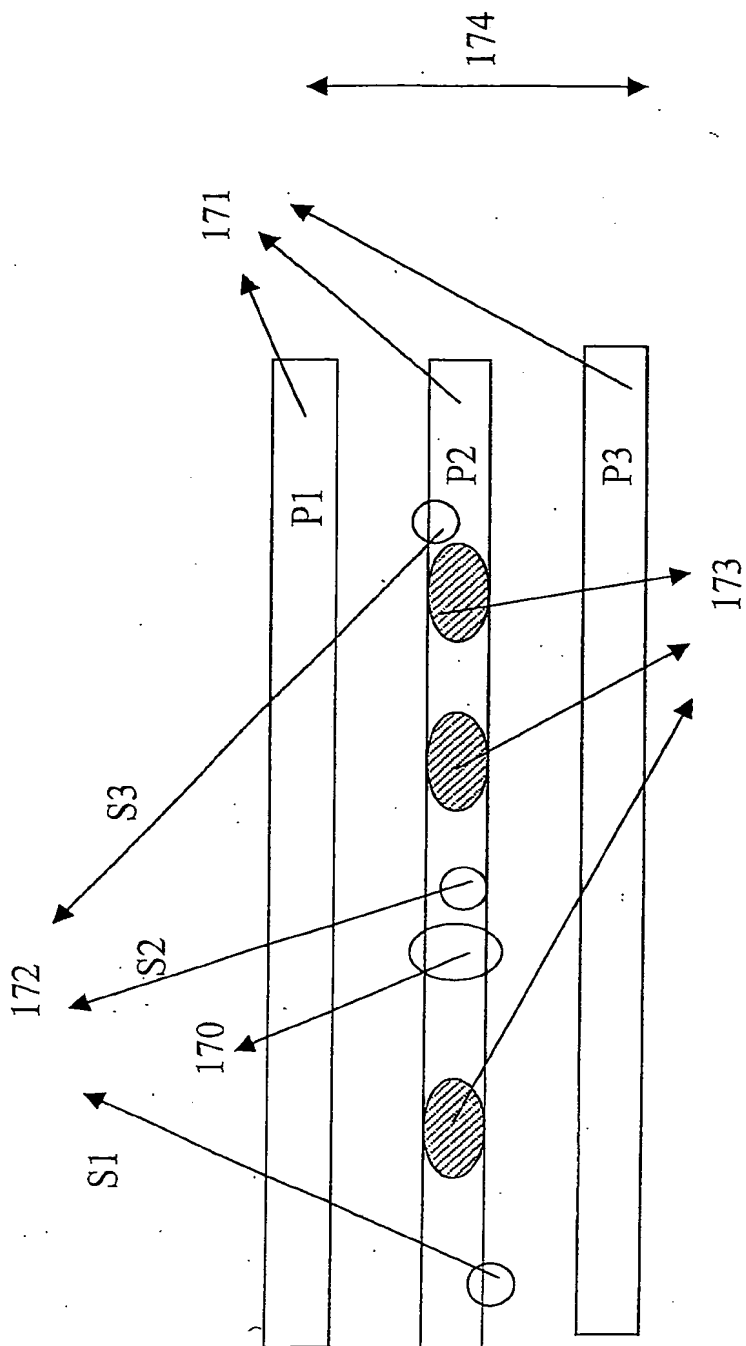


図17

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/004263

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl<sup>7</sup> G01N33/53, 35/10, 37/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl<sup>7</sup> G01N33/53, 35/10, 37/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2005
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2005	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2005

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2004-28992 A (Sony Corp.), 29 January, 2004 (29.01.04), & WO 2003/079103 A & EP 1486786 A	1-10
X	JP 2004-45376 A (Sony Corp.), 12 February, 2004 (12.02.04), & WO 2003/098216 A	1-10
X	JP 2004-12273 A (Sony Corp.), 15 January, 2004 (15.01.04), & WO 2003/104805 A	1-10

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&amp;" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
28 June, 2005 (28.06.05)Date of mailing of the international search report  
12 July, 2005 (12.07.05)Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl.<sup>7</sup> G01N33/53, 35/10, 37/00

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl.<sup>7</sup> G01N33/53, 35/10, 37/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2005年
日本国実用新案登録公報	1996-2005年
日本国登録実用新案公報	1994-2005年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	J P 2004-28992 A (ソニー株式会社) 2004. 0 1. 29 & WO 2003/079103 A & EP 1486786 A	1-10
X	J P 2004-45376 A (ソニー株式会社) 2004. 0 2. 12 & WO 2003/098216 A	1-10

☒ C欄の続きにも文献が列举されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの  
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)  
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献  
「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの  
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの  
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの  
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

28. 06. 2005

国際調査報告の発送日

12. 7. 2005

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)  
郵便番号100-8915  
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

竹中 靖典

2 J

9507

電話番号 03-3581-1101 内線 3252

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	JP 2004-12273 A (ソニー株式会社) 2004. 0 1. 15 & WO 2003/104805 A	1-10





**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**